Prix Gobley 1895 (3)

Prix Gobley 8

1895

Savoire

Alcaloïdes d'origine Microbienne

Prix Gobley 1895 (3)

École de Pharmacie de Paris.

Concours du prix Gobley. 1895

Savoire Victor Camille — Né à Marchenoir (Loir-et-Cher) le 6 Juillet 1869.
Pharmacien de 1re Classe — Interne à l'Hôtel-Dieu
Préparateur du Laboratoire de Clinique Chirurgicale.

Alcaloïdes d'origine Microbienne.

Alcaloïdes d'origine microbienne

La fin du 19e Siècle voit s'accomplir dans les sciences médicales une révolution qui tend à renverser toutes les théories admises jusqu'alors pour expliquer les causes des maladies de l'homme et des animaux et à établir une nouvelle thérapeutique dont les succès éclatants répondent à l'attente des novateurs.

Résumons en quelques mots l'histoire de la doctrine microbienne: née le jour où **Pasteur** s'aidant du microscope reconnut que le sang, les humeurs et les sécrétions de malades atteints de certaines affections renferment des organismes infiniment petits auxquels on donna le nom de microbes. L'expérimentation lui ayant démontré que l'introduction artificielle de ces infiniments petits dans l'organisme animal produit une maladie semblable imposait la conclusion suivante: Les microbes sont la cause des maladies infectieuses.

Ce premier point acquis et confirmé par les découvertes multiples de l'École pastorienne, les pathologistes se mirent à l'œuvre pour rechercher par quel mécanisme le microbe exerce son action pathogène: on admit d'abord le parasitisme s'exerçant au dépens de l'Organisme, puis une action mécanique

mécanique résultant de l'accumulation de microbes dans les vaisseaux et se traduisant alors par des embolies et leurs conséquences ou dans les organes.

Ces hypothèses peu satisfaisantes ne tardèrent pas à faire place à la doctrine chimique c'est **Toussaint** qui le premier affirma que les microbes secrètent des produits solubles au moyen desquels ils agissent sur nos tissus et nos organes.

A l'étude de ces produits solubles au point de vue de leur action physiologique se rattachent les noms de **Chamberland** et **Roux** qui dotent la science d'un instrument permettant de séparer les microbes de leurs produits solubles, de **Charrin** qui, par l'étude du bacille pyocyanique et de ses produits formule d'une façon magistrale la pathogénie des maladies infectieuses, **Bouchard** qui étudie les transformations subies par les poisons solubles dans notre organisme et les moyens de défense qui permettent à cet organisme de se débarasser de ces substances malfaisantes.

L'étude de ces produits solubles ne préoccupe pas seulement les médecins et les physiologistes mais aussi les chimistes qui voient l'analogie entre la maladie, fermentation morbide, et la putréfaction, fermentation putride, ils cherchent à isoler, séparer et à caractériser ces produits de secrétion des microbes et à ces études se rattachent les noms de **Gautier**, de **Selmi**, Villiers,

Villiers, Brieger, Pouchet, Gamaléïa etc

A mesure que les découvertes des chimistes deviennent plus nombreuses, on reconnait que les produits microbiens appartiennent à deux grandes catégories : les uns secrétés par le microbe lui-même : poisons primitifs, substances vaccinantes et vaccins chimiques sont insolubles dans l'alcool absolu qui les précipite de leurs solutions aqueuses, ils sont amorphes, ne forment pas de sels cristallisés, leur action physiologique ne se fait sentir qu'au bout d'un temps plus ou moins long et elle exige pour se manifester une température convenable; sous l'action d'une chaleur trop élevée ils perdent même la propriété d'influencer l'organisme, chimiquement, ils se comportent comme les ferments solubles ou diastases; les autres au contraire sont solubles dans l'alcool, cristallisables, leur action physiologique est immédiate et proportionnelle à la quantité ingérée et nullement influencée par la température, chimiquement et physiologiquement ils se comportent comme des alcaloïdes végétaux : les premiers reçoivent le nom de poisons primitifs et sont considérés comme les auteurs de fermentations amenant une décomposition des matières albuminoïdes, décomposition produisant les seconds poisons dérivés, alcaloïdes microbiens qui feront seuls l'objet de cette étude.

Cette question touche donc à la fois à la bactériologie

bactériologie à laquelle elle emprunte ses modes de culture et ses données sur les conditions les plus favorables à la vie du microbe.

Elle touche à la chimie biologique qui lui donne la composition des milieux animés dans lesquels vivent les microbes et aux dépens desquels ils élaborent leurs toxines.

La Chimie pure nous fournira ses procédés d'analyse et des réactifs qui nous permettront d'isoler, de caractériser ces substances et d'essayer même d'étudier leur constitution intime.

La physiologie nous sera souvent d'une grande utilité car elle nous permettra quand nous n'aurons que de faibles quantités de substances trop minimes pour permettre à l'expérimentation chimique d'en reconnaître la nature par analogie de l'action physiologique avec celle de substances connues.

Nous verrons en terminant cette étude qu'inversement elle a fourni des données très précieuses, à la chimie, à la physiologie à la pathologie, à la thérapeutique et à la médecine légale

Nous chercherons surtout à mettre en lumière les faits les plus saillants de l'histoire des Alcaloïdes d'origine microbienne ceux qui ont donné lieu à des découvertes ou à des considérations interessante pour les diverses Sciences que nous venons d'énumérer.

Nous

Nous cherchons à présenter une courte étude résumant les travaux les plus importants faits sur cette question, nous puiserons nos documents dans les communications originales des auteurs et nous indiquerons pour chacune d'elles les sources bibliographiques.



1° Historique de la découverte des Alcaloïdes d'origine microbienne.

Bien avant d'être isolés et caractérisés chimiquement, les Alcaloïdes microbiens avaient été soupçonnés et si leur véritable nature n'a été connue que depuis une vingtaine d'années leurs effets physiologiques avaient été signalés dès la fin du 18e siècle par le Chimiste allemand Seybert qui en 1758 constatait la puissance toxique du pus, du sérum sanguin et de la viande pourrie.

Gaspard ayant injecté à des animaux une infusion de viande putréfiée observa divers accidents suivis de mort et que dans un mémoire publié en 1822 (Journal de physiologie) il attribua à un « poison contenu dans la viande putréfiée » ; il chercha à caractériser ce poison et le reconnut différent des acides sulfhydrique et carbonique mais identique à l'Ammoniaque.

A la suite de Gaspard, Boyer et Bonnet attribuèrent successivement à l'ammoniaque à l'hydrogène sulfuré et au sulfhydrate d'ammoniaque la toxicité des produits organiques putréfiés.

C'est seulement en 1856 que le physiologiste danois Panum caractérisa le poison

poison putride et démontra : « qu'il n'est pas volatil mais fixe, 4 fois plus soluble dans l'eau que dans l'alcool et inorganisé »

Ces allégations furent confirmées en 1866 par Hemmer et Schweninger qui dans un mémoire sur l'Infection putride et ses causes affirmèrent la multiplicité des poisons putréfactifs.

Le premier de ces poisons fut obtenu cristallisé en 1868 par Bergmann et Schmiedeberg qui retirèrent de la levure de bière putréfiée un alcaloïde qu'ils appelèrent sepsine

L'année suivante Zuelzer et Sonnenschein traitant par l'Ether une macération de débris anatomiques en retirèrent un alcaloïde toxique se rapprochant par ses propriétés chimiques et physiologiques de l'atropine et de l'hyosciamine.

Le sang putréfié traité également par l'éther donnait à Schmidt et Petersen un alcaloïde analogue à la sepsine.

En 1871, Rorsch et Fassbender trouvèrent dans le foie et la rate d'un cadavre une substance analogue à la digitaline tandis que Schwannert dans les mêmes conditions obtenait le chloroplatinate cristallisé d'une base huileuse incristallisable.

Une substance analogue à la conine et désignée par Hager sous le nom de Septicine fut isolée dans les macérations anatomiques

anatomiques par Marquardt.
Tous ces travaux isolés n'avaient attiré que médiocrement l'attention du monde savant lorsqu'en 1872 un professeur de la faculté de médecine de Paris, Mr Gautier remarqua que les matières albuminoïdes en se putréfiant devenaient alcalines et que cette réaction alcaline n'était pas due à l'ammoniaque mais à des bases alcaloïdiques dont il isola quelques-unes.
Quelques années auparavant Selmi professeur de médecine légale à la faculté de Bologne appelé à confirmer les affirmations de chimistes qui avaient cru trouver dans les viscères du général Gibbone la delphinine démontra que l'alcaloïde en question n'était pas la delphinine mais un alcaloïde d'origine animale provenant de la putréfaction du cadavre. Deux procès semblables amenèrent Selmi à des constatations identiques et ayant expérimenté sur des cadavres dont il connaissait la provenance il annonça dans un premier mémoire (30 Juin 1872):
1°. Que l'estomac des personnes ayant succombé à une mort naturelle contient des substances qui se comportent avec les réactifs comme certains alcaloïdes végétaux.
2°. Que ces produits ne sont ni la créatine, ni la créatinine ni la tyrosine.
3°. Que l'on retrouve des produits analogues dans l'alcool ayant servi à la macération des

des pièces anatomiques. »

Enfin dans un second mémoire du 6 Xbre 1877 Selmi affirmait avoir obtenu deux alcaloïdes l'un fixe et l'autre volatil en soumettant à la putréfaction de l'albumine pure.

Non seulement Selmi poursuivit cette étude au point de vue de la médecine légale au moment où l'affaire Brandes Krebs en Allemagne permit à Otto de vérifier ses allégations, mais il entrevit l'intérêt que présentait sa découverte au point de vue de la pathologie et il trouva même des ptomaïnes de la fièvre typhoïde, du tétanos et de la pneumonie.

Liebermann, Van Gelder, Spica, Gianelli et Corona, Brouardel et Boutmy, Wolkenhaar rencontrèrent successivement dans un certain nombre de cadavres des alcaloïdes putréfactifs auxquels on donna le nom de ptomaïnes. (

En 1876, Nencki, donna l'analyse et l'étude chimique de la collidine obtenue par la putréfaction de la gélatine et plus tard en 1881, Gautier et Étard firent les mêmes études pour la parvoline et l'hydrocollidine tandis que Guareschi, Mosso et Oeschner de Coninck en 1883 étudièrent la corindine.

Si Gautier et Selmi avaient les premiers donné l'élan dans cette étude des alcaloïdes putréfactifs, les progrès réalisés sont dûs surtout à l'allemand Brieger

qui

qui isola successivement les ptomaïnes produites au cours de la putréfaction de la viande, du poisson, du fromage et étendant ses études aux microbes pathogènes il isola les bases secrétées par la bacille de la fièvre typhoïde, du tétanos et du choléra. Il émit même certaines hypothèses sur la constitution chimique et l'origine de ces corps, hypothèses que nous étudierons plus loin.

Avec Brieger reprenant les idées de Selmi, l'étude des alcaloïdes microbiens s'étend, ce ne sont plus seulement les microbes de la putréfaction que l'on observe, mais aussi ceux qui causent les principales maladies de l'homme et des animaux. Outre les ptomaïnes que nous venons de citer, il obtint en effet celle du staphylocoque pyogènes aureus, les quatre toxines du tétanos, concuremment avec Ferran de Barcelone il isola une substance analogue dans les cultures du bacille virgule du choléra (1887). Hoffa retira une toxine de la culture sur viande hachée du bacille anthracis.

D'autre part, s'ils ne parvenaient pas à les isoler un certain nombre de savants prouvaient l'existence des toxines dans les cultures de microbes, tel Pasteur pour le choléra des poules, Charrin pour le micrococcus pyocyaneus, Arloing pour le bacillus anthracis Chauveau.

Bouchard

Bouchard, Villiers et Pouchet retrouvaient un certain nombre de ces toxines dans les urines pathologiques et étudiaient ainsi plusieurs de ces corps que nous retrouverons dans la suite.

Ces savants indiquaient ainsi une voie qui ne pouvait que prendre une impulsion considérable avec les progrés des études bactériologiques aussi voyons nous par la suite d'importants travaux sur les poisons bactériens faits par Löffler, Koch Charrin qui par ses études sur la bacille pyocyanique nous donne la théorie complète de la production des alcaloïdes, Manfredi et Traversa étudient les toxines du microbe de l'erysipèle, Griffiths. s'attache surtout à retrouver des ptomaïnes dans les urines de personnes atteintes de maladies infectieuses et isole plusieurs de ces substances dont il nous donne la formule et les propriétés chimiques.

Hypothèses sur le mode de production et l'origine des Alcaloïdes.

De tous les problèmes soulevés par la découverte des alcaloïdes d'origine microbienne l'un de ceux qui ont le plus passionné les chercheurs et à juste titre car il est l'un des plus intéressants et l'un de ceux dont la solution ouvrirait le plus de voies à la thérapeutique : il s'agit du mécanisme de production de ces alcaloïdes.

Le but de la thérapeutique des maladies infectieuses est en effet non seulement d'éliminer les toxines de l'organisme mais plus encore de les empêcher de s'y former et ce but sera singulièrement facilité quand on saura exactement par quel mécanisme les microbes fabriquent ces substances.

Malheureusement en dépit des nombreux travaux publiés sur la question, nous en sommes encore réduits à émettre des hypothèses que rien n'a encore vérifiées

Le premier auteur qui se soit occupé de cette question est Mr A. Gautier qui, dans deux notes communiquées à l'Académie

l'Académie de Médecine les 19 et 26 Juillet 1881, établit que les poisons putréfactifs se forment sous l'influence de la vie des ferments et des tissus aux dépens des matières proteiques.

Vers la même époque, les études de Brieger semblèrent confirmer cette manière de voir et ce savant considéra la peptotoxine dont nous reparlerons comme la première étape de ce dédoublement des matières proteiques.

Une seconde série d'expériences faites avec la Neuridine lui fit émettre une hypothèse sur la production de cette base : Il remarqua d'abord que la Neuridine s'obtient en plus grande quantité du 5e au 6e jour de la putréfaction tandis qu'elle a totalement disparu le 8e jour.



La production de cette base est plus lente et s'arrête plus tôt si la putréfaction de la viande se fait à la température ordinaire sans addition d'eau. Les substances animales qui les fournissent le plus abondamment sont la gélatine, la chair de hareng et de petite morue; mais on ne peut la retirer ni de la viande fraîche, ni de la fibrine, ni de l'albumine ni de la créatine.

Brieger obtint la neuridine par la décomposition du jaune d'œuf par l'eau de baryte préalablement privée de la choline

par

par l'alcool.
Il admit alors qu'elle existait en combinaison dédoublable par ébullition avec l'eau de baryte. Identiquement dans la viande fraîche, la neuridine serait engagée dans une combinaison ~~et~~ semblable aux lécithines et le processus putréfactif détruirait cette combinaison et mettrait en liberté la neuridine qu'il dédoublerait à son tour.

Briéger admit que la décomposition par le processus putréfactif de la lécithine donnait la choline qui en perdant une molécule d'eau donne la névrine. cette deshydratation de la choline a été produite par Briéger en la chauffant en tube scellé avec l'acide iodhydrique.

Briéger démontra de même la production de la trimethylamine par dédoublement de la névrine.

En 1892 Hueppe admit la même hypothèse pour la production des poisons produits par les microbes pathogènes: « ces poisons, dit-il, sont produits par la décomposition de l'albumine morte ou vivante ».

Les travaux de Bergmann, Schmiederberg et ceux de Roussy vinrent infirmer ces assertions. Ces savants en opérant avec de la levure de bière réduite à l'autophagie et éloignée par conséquent de toute matière albuminoïde produisait cependant une substance appelée sepsine par les premiers, pyretogenine par le 3ème.
Popoff en laissant pourrir le liquide de culture

culture de Pasteur, absolument exempt de matières albuminoïdes et dont la seule substance azotée est le succinate d'Ammoniaque produisit en injectant ce liquide à des animaux les mêmes phénomènes qu'avec les matières albuminoïdes putréfiées. On pouvait, il est vrai, alléguer que l'introduction des microbes putréfactifs pouvait causer ces accidents, mais le même reproche ne pouvait être adressé à Bergmann qui stérilisa son liquide par la chaleur avant de l'injecter.

Schuller avec le liquide de Cohn et plusieurs élèves de Pachoutine vérifièrent l'exactitude de ces faits et se crurent autorisés à affirmer que : « Les poisons microbiens sont le résultat de l'action synthétique des microbes et non pas de la décomposition des matières albuminoïdes. »

Cantani expérimentant avec des cultures de bacille cholérique constata que, au moment de la vie du microbe, le liquide de culture est acide et non toxique puis quand les bactéries cessent de se développer et se déposent le liquide devient alcalin et de plus en plus toxique il en conclut que le poison bactérien serait renfermé dans le corps des bactéries et qu'il en serait extrait très lentement par le liquide dans lequel ces bactéries macèrent. Il supposa même que la toxicité des bactéries était analogue à celle de certains champignons, hypothèse admissible d'autant plus facilement que la substance

toxique

toxique des champignons, la muscarine présente beaucoup d'analogie avec les alcaloïdes microbiens.

En 1888, Gamaleïa démontra la toxicité des cadavres de bactéries tuées par la chaleur en opérant sur le bacille du choléra et le vibrion avicide tandis que Buchner retire une substance alcaloïdique de la substance même du bacille typhique et du bacille pyocyanique.

Koch extrait de même du bacille de la tuberculose des substances que nous étudierons plus tard.

Nous rappellerons aussi les travaux publiés par Guinochet en 1892 sur les produits sécrétés par le microbe de la diphtérie: Dans ce mémoire il se demande si les produits toxiques du microbe de la diphtérie sont des produits de décomposition des matières albuminoïdes ayant servi d'aliments au microbe (suivant l'hypothèse allemande soutenue par Brieger et Hueppe) ou s'ils résultent d'un processus synthétique?

Pour résoudre ce problème il cultiva le bacille de Löffler dans l'urine humaine, milieu dépourvu d'albumine, et il constata que cette urine ayant servi de milieu de culture filtrée au filtre Chamberland et injectée à des cobayes produit les mêmes accidents qu'une culture faite avec un bouillon riche en albumine mais avec une moindre intensité. Il tira de cette expérience la conclusion suivante: la toxine

toxine de la diphtérie ne dérive pas nécessairement de matières albuminoïdes, elle peut être élaborée en l'absence de ces matières. Il constata en même temps et cette constatation est importante que l'urine injectée ne donnait aucune des réactions des matières albuminoïdes même après concentration dans le vide. Cependant Mr. Guinochet n'osa pas nier la nature albuminoïde du poison et se retrancha derrière le défaut de sensibilité des réactifs. Voici donc un certain nombre de travaux qui semblent nous autoriser à formuler en face de l'hypothèse de Briéger et de Hueppe la suivante: Les poisons bactériens sont le résultat de la synthèse créatrice des bactéries et proviennent des corps bacillaires et leur nature chimique est identique avec celle des nucléines.

Tel était l'état de la science sur cette question lorsque deux médecins lyonnais MM. Courmont et Doyon lui firent faire un grand pas en démontrant que l'existence des deux hypothèses était le résultat d'une étude incomplète et de l'insuffisance des notions acquises sur la nature des poisons microbiens. Nous parlerons avec plus de détails de cette communication quand nous traiterons des produits du Bacille de Nicolaïer et pour l'instant nous donnerons simplement les conclusions et leurs conséquences du travail de MM. Courmont et Doyon.

Il est probable que d'autres substances microbiennes dites toxiques doivent, comme les toxines du bacille

bacille de Nicolaïer; agir comme des ferments solubles pour produire des toxiques aux dépens de l'Organisme.

Cette conclusion d'un travail sur lequel nous reviendrons plus longuement à cause de l'intérêt qu'il présente à l'avantage de concilier les deux hypothèses qui précèdent et elle nous servira également à expliquer les divers résultats en apparence contradictoires auxquels nous arriverons dans l'étude des produits solubles secrétés par les microbes pathogènes. Il ressort en effet de cela que le microbe élabore aux dépens de sa substance même un ferment soluble qui détermine dans l'organisme malade une fermentation au cours de laquelle les alcaloïdes microbiens prennent naissance aux dépens des cellules de notre organisme.

Ces deux substances sont en effet nettement différentes l'une de l'autre: la substance provenant de la synthèse créatrice des corps bacillaires est une diastase amorphe soluble dans l'eau, insoluble dans l'alcool qui la précipite de ses solutions aqueuses: son action sur l'Organisme n'est pas immédiate, ce n'est qu'au bout d'un certain temps d'incubation que se produit la fermentation qui donne lieu à la production des alcaloïdes dont nous parlerons dans le chapitre suivant.

Nous verrons également dans la conclusion de notre travail les remarquables découvertes qui ont été la conséquence des divers travaux dont nous venons de parler.

Modes Généraux de préparation

Nous ne donnerons ici que les procédés qui s'appliquent à la recherche générale des alcaloïdes microbiens, ceux qui sont d'un usage moins général seront étudiés avec les alcaloïdes auxquels ils sont appliqués.
Nous suivrons dans cette étude l'ordre historique.

Méthode de Stas modifiée par Otto.

Elle consiste à diviser complètement les matières et à les faire digérer dans l'alcool à 90° à une température de 70° environ pendant un temps assez long après les avoir préalablement additionnées d'une quantité suffisante d'acide tartrique pour maintenir la réaction légèrement acide. On renouvelle plusieurs fois cette opération puis on réunit toutes les liqueurs alcooliques que l'on filtre et que l'on évapore dans le vide à 35°. Le résidu est agité avec de l'Ether qui dissout les matières grasses, on décante puis on mêle le résidu avec du verre pilé on évapore à siccité dans le vide en desséchant l'atmosphère avec de l'acide sulfurique. On reprend le résidu par l'alcool absolu, on évapore à nouveau après 24 heures, on dissout le produit dans l'eau,

on

on neutralise et on alcalinise même légèrem.t par du bi carbonate de soude. L'alcaloïde est dissout dans l'éther qui l'abandonne par évaporation. Il est alors plus ou moins pur.

Méthode Dragendorff.

La méthode de l'éminent chimiste de Dorpat consiste a hâcher finement les matières et à les mélanger avec une quantité suffisante d'acide sulfurique dilué pour former une bouillie claire et à faire digérer le tout à 50° pendant quelques heures. On exprime le mélange et on recommence 2 ou 3 fois cette opération. Les liqueurs réunies et filtrées sont ensuite évaporées en consistance sirupeuse puis additionnées d'alcool à 95° qui précipite complètement les matières albuminoïdes qu'on sépare ensuite par filtration tandis que le liquide est évaporé. Le résidu est lavé par la benzine à deux reprises pour le débarasser des matières grasses puis additionné d'ammoniaque jusqu'à réaction franchement alcaline; on chauffe alors à 40 à 50° puis on dissout l'alcaloïde en traitant à plusieurs reprises par la benzine, cette benzine cède cet alcaloïde à l'eau acidulée par SO^3HO et le sulfate formé sera décomposé par l'Ammoniaque.

On purifiera l'alcaloïde par diverses solutions dans l'eau acidulée puis

dans

dans la Benzine, l'éther, le chloroforme, etc...

4° Méthode de Gautier et Etard.

Les liqueurs putrides étaient acidulées par l'acide sulfurique étendue, puis séparées des huiles surnageantes et distillées dans le vide à basse température. Il se dégageait de l'ammoniaque, du scatol, de l'indol......
Le résidu liquide, sirupeux séparé des cristaux qui se forment, est alcalinisé avec de la baryte, filtré et la liqueur est agitée un grand nombre de fois avec du chloroforme pour dissoudre les bases. On distille ensuite à basse température dans le vide ou dans un courant d'acide carbonique, et à la liqueur qui reste on ajoute de l'eau acidulée avec de l'acide tartrique, on filtre pour séparer une matière résineuse brune qui s'est précipitée. La liqueur filtrée est traitée par la potasse affaiblie dégage une vive odeur de carbylamine et met les ptomaînes en liberté.
On les enlève avec l'éther et on les sépare en bloc par évaporation dans un courant d'acide carbonique sous une cloche contenant de la potasse caustique pour empêcher leur carbonation. On peut alors les séparer et les caractériser individuellement par précipitations fractionnées au moyen du chlorure de platine ou par distillation fractionnée dans le vide.

Remarque.

Remarque :- Ce procédé n'était qu'une modification d'un procédé plus ancien et que nous rappellerons à cause de son intérêt historique c'est en l'appliquant que Gautier découvrit la plupart de ses ptomaïnes.
Il coagulait les sucs ou liquides sur lesquels il opérait par l'acide sulfurique étendu, la liqueur était après filtration traitée par un lait de magnésie en excès puis refiltrée et distillée. La liqueur distillée et acidulée par l'acide chlorhydrique, évaporée à sec puis traitée à plusieurs reprises par l'alcool absolu donnait les chlorhydrates d'alcalis volatils. On reprenait alors le résidu de la distillation. on le concentrait presque à sec dans le vide, on ajoutait le précipité magnésien préalablement formé et le tout mélangé de sable et d'eau formait une bouillie qu'on séchait à 60° environ pour l'épuiser ensuite dans le digesteur Payen au moyen de l'éther. L'éther en s'évaporant laissait un résidu qui repris par l'eau acidulée donnait les sels des alcaloïdes fixes.

3° Méthode de Gautier. - Mr Gautier a perfectionné les méthodes précédentes en remplaçant l'acide sulfurique par l'acide oxalique qu'il ajoute aux liqueurs alcalines putréfactives jusqu'à franche acidité et mise en liberté complète des acides gras liquides qu'on sépare par décantation et filtration. On distille pour débarasser la liqueur de l'indol, du scatol du pyrrol.

du pyrrol, des acides volatils et de l'ammoniaque. On alcalinise alors avec de la chaux le résidu, on filtre pour séparer le précipité formé par les acides gras fixes. On distille à sec dans le vide et on reçoit les vapeurs dans l'acide sulfurique étendu qui dissout les bases avec l'ammoniaque. La liqueur résultant de cette distillation est neutralisée et évaporée presque à sec; le sulfate d'ammoniaque cristallise et est séparé par filtration. Le résidu est repris par l'alcool à 95° qui dissout les sulfates des ptomaïnes.

On chasse l'alcool par distillation, on ajoute de la soude caustique et la liqueur agitée avec l'éther alcoolique, l'éther de pétrole et le chloroforme leur cède les alcaloïdes volatils. Les alcaloïdes fixes seront obtenus en traitant par l'éther à 36° le produit resté dans l'appareil distillatoire avec l'excès de chaux. La solution éthérée traitée par l'eau acidulée abandonnera les bases qui seront précipitées par la soude.

Méthode de Pouchet

M. Pouchet a imaginé une méthode applicable surtout aux urines et aux liquides de l'organisme, méthode qui consiste à précipiter par le tannin l'urine préalablement alcalinisée puis à décomposer les tannates formés par l'hydrate de plomb en présence de l'alcool; filtrer ensuite et distiller pour recueillir l'alcool

dialyser

dialyser le résidu pour séparer les alcaloïdes qui seront séparés par les dissolvants appropriés.
Cette méthode a l'inconvénient de ne donner qu'une partie des alcaloïdes car au contact de l'air le tannin s'oxyde et s'altère surtout en présence des alcalis dont la précipitation devient incomplète.

Méthode de Brieger.

L'allemand Brieger auquel on doit la découverte d'un grand nombre d'alcaloïdes microbiens les isolait par la méthode suivante que nous empruntons textuellement à son livre "Ueber Ptomaïne" : « La viande hachée finement est abandonnée à la putréfaction au contact de l'eau pendant 5 à 6 jours ; la masse après ébullition est filtrée et précipitée par le sous acétate de plomb, l'excès de plomb est éliminé par l'hydrogène sulfuré, la liqueur débarassée du sulfure de plomb, est évaporée jusqu'à consistance sirupeuse et épuisée par l'alcool amylique ; on distille puis on reprend le résidu par l'eau ; on concentre, on acidule par l'acide sulfurique ; et on agite la masse avec de l'éther qui enlève les acides de la série benzénique ; par évaporation, on réduit au quart le volume initial pour séparer les acides gras. On se débarasse de l'acide sulfurique par la baryte dont on élimine l'excès par

par l'anhydride carbonique; on filtre et on chauffe au bain-marie. Après refroidissement, on précipite par le chlorure mercurique. On lave le précipité, puis on le décompose par l'hydrogène sulfuré: finalement on concentre par évaporation. Il se dépose d'abord des substances inorganiques qu'on sépare et qu'on lave à l'alcool absolu.

Bientôt après on voit se former des cristaux solubles dans l'eau et l'alcool étendu, insolubles dans l'alcool absolu, la benzine, le chloroforme. Les corps qui cristallisent sont séparés les uns des autres par précipitation fractionnée à l'aide du chlorure de platine et du chlorure d'or.»

Le procédé trop compliqué a été simplifié par son auteur qui se contenta ensuite de porter à l'ébullition ses liqueurs putrides et de les précipiter après filtration par le bi chlorure de mercure, de décomposer ensuite le précipité par l'hydrogène sulfuré, etc ....

Enfin dans son ouvrage: Microbes, ptomaïnes et maladies: traduit par mon ami le Dr Roussy, Briéger recommande de traiter les matières putréfiées par un léger excès d'acide chlorhydrique qui donne des chlorhydrates qu'on extrait de la liqueur (amenée en consistance sirupeuse) au moyen d'alcool absolu, on chasse l'alcool et on traite par l'alcool absolu à plusieurs reprises, ce qui précipite les bases les moins solubles tandis que les autres sont précipitées au bout

de

de 24 heures par le sublimé corrosif qui précipite en même temps les peptones et albuminates entrainés par l'alcool et dont on se debarasse par l'eau bouillante qui les laisse insolubles tandis qu'elle dissout les combinaisons formées par les ptomaïnes avec le sublimé.

Méthode de Mr. Villiers
pour les urines

Un à deux litres d'urine acidifiée sont évaporés à sec, d'abord à chaud puis dans le vide ; le résidu est repris par l'alcool absolu puis la solution est filtrée et évaporée dans le vide et le nouveau résidu est repris par une petite quantité d'eau. Cette solution traitée par le carbonate de soude et agitée avec de l'éther donnera les alcaloïdes qu'on transformera en chlorhydrates au moyen d'une petite quantité d'eau acidulée avec l'acide chlorhydrique.



Méthode de Griffiths et Ladel. (pour les Urines)

Additionner l'urine de carbonate de soude jusqu'à ce qu'elle soit légèrement alcaline puis l'agiter avec la moitié de son volume d'éther ; laisser reposer quelques instants, filtrer et agiter la solution éthérée avec une

solution

solution aqueuse d'acide tartrique qui s'empare des ptomaïnes. Alcaliniser cette dernière solution avec du carbonate de soude puis agiter avec la moitié de son volume d'éther, décanter, laisser évaporer l'éther et les ptomaïnes restent comme résidu.

Cette méthode a également été appliquée aux urines par Arthur Luff, qui a extrait deux ptomaïnes que nous étudierons ultérieurement.



Propriétés générales et essai de théorie sur la constitution des alcaloïdes microbiens.

Dans ce chapitre nous indiquerons les propriétés générales des ptomaïnes, nous attachant surtout à indiquer celles qui permettent de les caractériser en bloc, les propriétés spéciales seront indiquées ultérieurement pour chacune d'elles. Nous exposerons successivement les propriétés qui leur sont communes avec les alcaloïdes végétaux puis les réactions dites spécifiques des alcaloïdes, les propriétés physiologiques et nous terminerons par des considérations sur les moyens à employer par les experts pour differentier ces deux sortes d'alcaloïdes.

Propriétés physiques: Les ptomaïnes sont liquides et volatiles et non oxygénées ou solides cristallisées, fixes et oxygénées.

Les premières jouissent d'une odeur pénétrante et tenace tantôt vireuse et cadavérique, tantôt analogue à celle du seringa, du musc ou de l'aubépine et cette odeur est assez persistante pour que Mr Gautier ait pu la retrouver dans des débris provenant de cavernes à ossements. Les ptomaïnes liquides sont solubles dans l'ether alcoolique et la plupart dans l'alcool amylique et le chloroforme

Les.

Les secondes sont cristallisées, blanches, très solubles dans l'eau, insolubles dans l'alcool, la benzine, le chloroforme.

Propriétés chimiques : 1° communes aux alcaloïdes végétaux et animaux : Les ptomaïnes sont très instables, un excès d'acide décompose leurs sels, la lumière agit dans le même sens. Elles sont très avides d'eau, elles absorbent l'acide carbonique de l'air. Elles sont très oxydables au contact de l'air et agissent comme des réducteurs energiques vis à vis de l'acide iodique, de l'acide chromique, du chlorure d'or, du nitrate d'argent, du perchlorure de fer.

Le chlorure d'or donne avec les ptomaïnes un précipité jaune soluble dans l'eau bouillante.

L'acide picrique et le tannin donnent avec un grand nombre d'entre elles des précipités peu solubles.

L'acide iodhydrique ioduré donne un précipité abondant de couleur brune susceptible de cristalliser par dessication en prismes rubis enchevetrés.

L'acide phosphomolybdique précipite toutes les ptomaïnes.

Les acides forts donnent avec elles des réactions colorées : rouge violacé avec l'acide sulfurique, et l'acide chlorhydrique, jaune d'or avec l'acide nitrique et la potasse.

Le mélange d'acide iodique, d'acide sulfurique et de bi carbonate de potasse avec les ptomaïnes donne

donne une coloration rouge violacée.

Les ptomaïnes comme les alcaloïdes végétaux sont précipitées par le sulfomolybdate de soude, le sulfovanadate d'ammoniaque, le sulfoselenite de soude, l'acide phosphotungstique, l'acide phosphoantimonique l'iodure double de mercure et de potassium, les iodures de bismuth et potassium, de cadmium et de potassium, l'iodure de potassium iodé et le bichlorure de mercure

2º Reactions dites specifiques des alcaloïdes microbiens. On conçoit facilement l'intérêt que présente pour le chimiste expert l'étude de ces réactions au cours du rapide historique que nous avons fait de la découverte des alcaloïdes putréfactifs, nous avons dit que c'était surtout le problème de médecine légale soulevé par leur découverte qui donna à leur étude un rapide essort : N'est ce pas à la suite des débats survenus dans l'affaire du général Gibbone que le gouvernement italien nomma une commission chargée de rechercher les moyens permettant de différencier les alcaloïdes putréfactifs des alcaloïdes végétaux, le président de cette commission François Selmi directeur de l'Ecole de pharmacie de Bologne déposa son rapport l'année suivante. Dans ce rapport nous trouvons indiquées les réactions colorées données par les acides minéraux avec les ptomaïnes, réactions colorées que nous avons indiquées mais qui sont insuffisantes, quelques unes étant

étant communes aux alcaloïdes végétaux. Dans ce même rapport, Selmi trouvant ses réactions insuffisantes conseillait de déterminer la totalité des propriétés physiques et chimiques des alcaloïdes isolés dans le plus grand état de pureté possible et de ne conclure à la présence d'un alcaloïde végétal que si toutes ses propriétés connues avaient pû être vérifiées.

En 1881, deux médecins français, Messieurs Brouardel et Boutmy, frappés des difficultés que présentait l'application du procédé Selmi cherchèrent à leur tour un réactif dont l'application permît de dire immédiatement si l'on se trouvait en présence d'une ptomaïne ou d'un alcaloïde végétal.

Ils utilisèrent pour cette recherche les propriétés réductrices des ptomaïnes et dans une communication faite à l'Académie des Sciences le 2 Mai 1881 ils s'exprimaient ainsi:

« Ce réactif existe : c'est le cyanoferride
» de potassium. Ce sel, mis en présence des
» bases organiques pures prises au laboratoire
» ou extraites du cadavre après un empoisonne-
» ment avéré, ne subit aucune modification.
» Il est, au contraire ramené instantanément
» à l'état de cyanoferrure par l'action des
» ptomaïnes et devient alors capable de
» former du Bleu de Prusse avec les sels
» de fer.

« Lors donc que la méthode de Stas aura

permis

« permis d'isoler une substance se comportant « vis-à-vis de l'iodomercurate de potasse comme « le font les alcaloïdes végétaux, si cette substance « reste sans action sur le cyanoferride de potassium, « on pourra admettre qu'on est en présence « d'un alcaloïde végétal et qu'il y a eu « empoisonnement. Si au contraire le cyanoferride « de potassium se trouve reduit on se trouve « en présence d'une ptomaïne.

« Pour opérer cette réaction, on convertit en « sulfate la base à essayer, puis on dépose « quelques gouttes de solution aqueuse de ce « sulfate dans un verre de montre contenant « une petite quantité de cyanoferride dissous.

« Une goutte de perchlorure de fer neutre « versée sur ce mélange détermine la formation « du bleu de Prusse si la base est une ptomaïne ».

Dans ce même mémoire Messieurs Brouardel et Boutmy signalaient la morphine et la veratrine(??) comme determinant la production du Bleu de Prusse.

Cette communication donna lieu dans la séance du 17 Mai à une discussion au cours de laquelle Mr Armand Gautier, ajouta aux deux alcaloïdes végétaux cités par les auteurs comme pouvant donner des résultats douteux: l'hyoscyamine, l'emetine, l'igasurine, la veratrine la veratrine, la colchinine, la nicotine et l'apomorphine, la théobronine, Mr Tanret ajouta la pelletiérine et l'ergotinine, mais ajoutait-il ces substances amènent la formation <u>lente</u> du bleu de Prusse mais non immédiate comme le

font

sont les ptomaines.

Un certain nombre de bases artificielles telles que l'aniline, la méthylaniline, la paratoluidine, la diphénylamine, la pyridine la naphtylamine, la diallylène-diamine et l'acétonamine donnent immédiatement la réaction Brouardel-Boutmy.

Mr Gauthier concluait néanmoins en disant que « Cette réaction resterait comme un précieux moyen de différencier dans les cas douteux un alcaloïde artificiel ou cadavérique d'un alcaloïde naturel.

A cette liste d'alcaloïdes produisant la réaction vinrent s'ajouter la muscarine, la brucine, la cicutine, la digitaline, la picrotoxine la strychnine la papavérine, la narcéine, la codéine (Berkusts) tandis que Messrs Pouchet et Brieger signalaient un certain nombre de ptomaïnes oxygénées ne donnant pas cette réaction et Brieger l'attribuait aux peptones qui souillent souvent les ptomaïnes.

Dans une deuxième note à l'Académie des Sciences le 14 Juin, MMrs Brouardel et Boutmy utilisant la propriété des ptomaïnes de réduire le bromure d'argent indiquaient un deuxième procédé : « Sur un papier préparé au bromure d'argent comme on l'emploie en photographie, on trace avec une plume d'oie trempée dans la solution saline a essayer le mot ptomaïne et le nom de l'alcaloïde végétal auquel cette base ressemble le plus. Au bout d'une demi-heure d'attente, le papier bromuré resté à l'abri de

la lumière

la lumière est livré à l'hyposulfite de soude puis à l'eau. Dans le cas où la base est une ptomaïne ce mot reste tracé en noir sur le papier, par suite de la réduction du bromure d'argent à l'état d'argent métallique, tandis que, dans le cas où on se trouve en présence d'un alcali végétal, le papier ne porte aucune trace ou une trace si faible qu'il est impossible de lire le nom qui la constitue.

Dans le cas d'un mélange d'une ptomaïne et d'une base végétale il pourrait y avoir confusion, les auteurs modifient ainsi leur procédé : « A l'aide d'une solution d'iodomercurate de potasse on dose la quantité de base existant dans la solution à caractériser sans distinction. Puis en se servant d'une solution pure de ce dernier alcali au même titre alcaloïdique que la précédente, on trace le nom de cet alcaloïde sur le papier bromuré à côté du même nom écrit avec la solution à essayer. Après fixation, on reconnait que la base pure prise comme terme de comparaison n'a pas laissé de trace sur le papier tandis que le mélange laisse au contraire une trace dont la netteté va croissant avec la quantité de ptomaïnes

Quelques années plus tard H. Wefers Betting et W. J. L. von Bissel ont fait connaître une réaction caractéristique des ptomaïnes et que seule la morphine partageait avec eux : On dissout environ 1 milligramme d'une ptomaïne dans une goutte d'une solution à 1/100 d'acide chlorhydrique

chlorhydrique et on y ajoute une goutte d'une autre solution de 2gr. de perchlorure de fer cristallisé dans 2 C³ d'eau acidulée à 1/100 d'acide chlorhydrique. Le mélange est ensuite additionné de 0g5 d'anhydride chromique dissout dans q. s. d'eau pour faire 100 C³.
Le ferricyanure de potassium agissant sur ce mélange produit immédiatement une coloration bleu de Prusse.

Brieger émet à priori un doute sur cette réaction produisant du bleu de Prusse en milieu oxydant et il affirme ne l'avoir vu réussir avec aucune des ptomaïnes pures qu'il a isolées.

Trotarelli a donné comme réactif spécifique des ptomaïnes un mélange d'azotate de palladium et de nitroprussiate de soude mais Griebner et Dragendorff ont nié cette réaction.

En résumé, on voit que les réactions chimiques dites spécifiques des alcaloïdes sont bien imparfaites, aussi avant de conclure et d'indiquer la marche à suivre dans une expertise medico légale, indiquerons nous les propriétés physiologiques des ptomaïnes dont la constatation devra toujours accompagner celle des propriétés chimiques.

Propriétés physiologiques: Les ptomaïnes possèdent une saveur piquante qui engourdit la langue; prises en grande quantité elles déterminent une sensation de strangulation. Elles sont veneneuses à un haut degré

et

et plus dangereuses en nature qu'à l'état de sels, les ptomaïnes solubles dans l'éther sont les plus toxiques.

Les symptômes de l'intoxication sont les suivants : 1° Dilatation suivie de retrecissement de la pupille - 2° Convulsions tétaniques puis flaccidité musculaire ; 3° - Ralentissement de la respiration et des battements du cœur ; 4° Perte absolue de la sensibilité cutanée ; 5° Somnolence à laquelle succèdent les convulsions et la mort ; 6° Perte absolue de la contractilité musculaire même sous l'Influence de l'Excitation électrique.

Ce dernier caractère surtout est extrêmement important car il n'y a que deux corps qui amènent ainsi la perte absolue de la contractilité musculaire sous l'influence de l'excitation électrique ce sont : la Muscarine poison des Champignons qui comme nous avons eu l'occasion de le dire se rapproche des ptomaïnes par son origine et le sulfocyanure de potassium qui abolit la contractilité électrique des muscles mais qui les laisse en tétanos et non flaccidité.

Nous n'indiquerons ici que pour mémoire le rôle joué par certains alcaloïdes microbiens dont nous reparlerons : les toxines dans les maladies infectieuses.

De l'expertise médico-légale : - Il est un fait qu'on vérifie constamment dans la pratique et qui peut être une source d'erreurs judiciaires et de mécomptes pour l'expert chargé d'une

recherche

recherche médicolégale c'est la difficulté extrême que l'on éprouve à séparer les alcaloïdes végétaux des ptomaïnes auxquelles on doit s'attendre à les voir mélangés lorsque dans les cas d'empoisonnement on ne procède pas à l'analyse chimique immédiatement, c'est-à-dire 24 ou 48 heures après la mort.

Dans cette hypothèse où l'expertise aurait eu lieu dans un laps de temps supérieur à 48 heures, l'expert s'attachera toujours à obtenir des alcaloïdes cristallisés et dans le plus grand état de pureté possible et il en vérifiera soigneusement toutes les propriétés physiques et chimiques: il reconnaîtra alors qu'il se trouve soit en présence d'une seule sorte d'alcaloïdes, soit en présence d'un mélange d'alcaloïdes putréfactifs et d'alcaloïdes végétaux.

Dans le premier cas, s'il s'agit d'alcaloïdes animaux, suivant la remarque de Marino Zuco ils se trouveront en si petites quantités qu'à poids égal aucun alcaloïde végétal ne serait capable de déterminer la mort d'un homme. D'autre part, la réaction Brouardel Boutmy avec production immédiate de bleu de Prusse permettra d'exclure tous les alcaloïdes végétaux sauf la morphine, l'apomorphine, la vératrine, l'hyoscyamine et la muscarine.

L'expérimentation du courant électrique sur les muscles permettra de trancher la difficulté et ce résultat pourra être contrôlé comme suit: Si l'alcaloïde est la morphine

on

on aura par l'expérimentation physiologique comme avec une ptomaïne les symptômes de l'intoxication par les narcoticoâcres, mais avec la morphine, l'animal succombera lentement et sera stupéfié d'autre part le réactif de Fröhde d'une part et le perchlorure de fer qui sans action sur les ptomaïnes se colore en bleu avec la morphine permettront de se prononcer. —

S'agit-il de la vératrine, la réaction Brouardel Boutmy se fera très lentement et restera incertaine.

La strychnine sera décelée par la teinte violacée que donne avec elle le bichromate de potasse mélangé à l'acide sulfurique.



L'atropine serait caractérisée par la coloration violette avec la potasse après oxydation avec l'acide nitrique.

Seule la muscarine ne donne pas de réactions chimiques bien caractéristiques et c'est surtout elle qu'on devra obtenir dans un grand état de pureté pour faire comparativement des expériences physiologiques

2° Mais si la distinction est facile dans le cas que nous venons d'envisager, il n'en sera pas de même quand nous serons en présence d'un mélange de ptomaïnes et d'alcaloïdes végétaux.

Supposons, par exemple, le cas d'un cadavre ayant séjourné 18 mois sous l'eau et présentant à la fois les réactions de la vératrine et la réaction Brouardel très nette, comment

distinguer

distinguer l'alcaloïde? un seul procédé permet de le faire, l'action des dissolvants, des cristallisations répétées pour séparer les deux corps et quand on les aura ainsi séparés, l'injection à des animaux.

S'agit-il d'un empoisonnement par la morphine, cette substance n'amenant la mort qu'à dose relativement élevée, la quantité de ptomaïnes formée sera insuffisante pour masquer les réactions chimiques et physiologiques de la morphine.

Le cas d'un cadavre ancien provenant d'un individu intoxiqué par la strychnine ou par l'aconitine serait plus embarassant car ces bases sont très vénéneuses et si on a employé la dose minimum pour produire l'empoisonnement et que la recherche soit faite plusieurs mois après lorsque le dévelop-pement des ptomaïnes sera avancé, les alca-loïdes végétaux disparaissant peu à peu, la réaction bleu violacée donnée par la strychnine avec le mélange de bi chromate de potasse et d'acide sulfurique pourra être noyée dans la coloration brune puis verte produite dans les mêmes conditions par les ptomaïnes.

Dans ce dernier cas, c'est seulement peu de temps après la mort, c'est-à-dire quand le développement des alcaloïdes cadavériques sera peu avancé et que d'autre part le poison cherché n'aura pu subir d'altération que l'expertise sera possible.

Dans tous les cas, l'expert devra se

rappeler

qu'il ne sera en droit de conclure à un crime que s'il a isolé une certaine quantité d'alcaloïde végétal cristallisé à l'état libre et présentant un accord parfait dans les caractères physiques, chimiques et physiologiques avec un poison végétal connu. Il aura le droit de conclure à la présence de l'alcaloïde qui présente ces propriétés surtout s'il se rappelle que malgré l'assertion d'un avocat (aff. Brands) la réaction physiologique accompagnée de l'étude myographique est décisive et que la persistance de l'impressionabilité du muscle aux courants d'induction est une réaction éliminatrice des ptomaïnes

En résumé, si dans certains cas les difficultés de l'expertise sont grandes elles ne sont pas insurmontables, ce qu'il importe surtout de faire, c'est de compléter et de préciser l'étude des ptomaïnes. De cette façon, les experts se trouveront à l'abri des difficultés que peut faire naître la question des ptomaïnes; mais il en reste une sur laquelle je veux dire quelques mots et qui reste suspendue sur leur tête comme l'épée de Damoclès dont parlait Mr. Brouardel au sujet des ptomaïnes: je veux parler des toxines.

L'extension donnée à l'étude des toxines secrétées par les microbes pathogènes et à celle des ptomaïnes, le retentissement donné à ces travaux dans le monde profane ont fait

fait connaître ces poisons dont quelques-uns sont aussi dangereux que les poisons végétaux, or le jour où un criminel se servira d'alcaloïdes cadavériques ou d'une culture stérilisée ou non de bacille de Löffler ou de streptocoque, il ne sera peut être pas très facile à l'expert de déceler le poison employé ou tout au moins de dire s'il y a eu tentative criminelle ou maladie contractée?

Nous ne nous étendrons pas sur cette question mais nous avons simplement voulu la poser comme un problème se rattachant au sujet qui fait l'objet de cette étude.

Cet exposé des propriétés des alcaloïdes microbiens serait incomplet si nous ne résumions pas ici les diverses hypothèses qui ont été faites sur la place occupée dans la série des alcaloïdes par les ptomaïnes et les toxines: ici comme pour l'origine de ces corps, la question est loin d'être résolue en dépit des nombreuses hypothèses qui ont été faites sur ce sujet.



Panum considéra le poison putride qu'il avait découvert comme une substance albuminoïde analogue aux peptones et non modifiable par l'ébullition; ses études chimiques se bornèrent à ces constatations et il nous faut attendre jusqu'aux travaux de Selmi, Gautier et Brieger pour trouver des tentatives de classifications et de détermination des fonctions chimiques des poisons bactériens. tandis que Selmi affirme que les alcaloïdes animaux

animaux qu'il avait isolés étaient extrêmement semblables aux alcaloïdes d'origine végétale et appartenaient à la série pyridique comme ces derniers, Gautier et après lui Nencki, Guareschi et Mosso trouvent des alcaloïdes moins complexes que les alcaloïdes végétaux mais appartenant comme eux à la série pyridique Brieger au contraire range presque toutes les ptomaïnes qu'il a isolées parmi les diamines.

Ces constatations présentent un très grand intérêt car elles montrent que chacun des savants qui se sont occupés activement de la recherche des ptomaïnes a trouvé des corps appartenant à la même classe d'alcaloïdes mais classe différente de celle des composés trouvés par d'autres expérimentateurs il semble ressortir très nettement de ce fait que la fonction chimique de ces ptomaïnes dépend de leur mode de préparation.

Il n'y a là rien qui doive nous surprendre. Rappelons en effet que les ptomaïnes ne préexistent pas en nature dans les tissus mais qu'elles y sont en combinaison albuminoïdique et qu'elles constituent probablement ces corps découverts par Miescher et étudiés par Kossel auxquels on a donné le nom de nucleoalbumines et qui sont constitués par l'union des albumines avec des bases organiques et du phosphore. c'est le processus putréfactif qui amène la décomposition

décomposition de ces nucleoalbumines et nous verrons dans nos conclusions que la décomposition des albuminoïdes s'effectue en plusieurs stades donnant des produits dont la composition se simplifie de plus en plus par perte des chaines latérales et rupture des noyaux cycliques: ceci suffit déjà pour expliquer que suivant l'époque de la putréfaction à laquelle les observateurs ont obtenu leurs produits, ils aient rencontré des alcaloïdes plus ou moins complexes.

D'autre part les nucleo albumines se décomposent par le contact prolongé avec l'alcool, par le chauffage en donnant des bases alcaloïdiques. or Brieger traite ses tissus animaux par l'ébullition avec l'acide chlorhydrique, et cette action suffit à elle seule pour amener une décomposition des matières albuminoïdes et surtout des nucleoalbumines décomposition qui correspond à l'apparition de la peptotoxine qu'aucun autre opérateur n'a pu obtenir par une méthode moins brutale et qui n'a été extraite après Brieger que par Baumann qui remplaça l'acide chlorhydrique par le chlorure de Benzoyle réactif aussi énergique.

Cette conception des nucléoalbumines suffit donc pour expliquer avec l'hypothèse de Monsieur Schutzenberger que nous exposerons plus tard la diversité des résultats obtenus, elle a été vérifiée par Martin pour la toxine du charbon qu'il

a

a reconnu provenir d'une combinaison albuminoïde par Briéger pour la choline et la Neuridine.

Quoiqu'il en soit nous rangerons les ptomaïnes connues en trois grands groupes:

1°. Les ptomaïnes acycliques non oxygénées telles que la saprine, la cadavérine qui est une pentaméthylènediamine, la putrescine et presque toutes les ptomaïnes non oxygénées de Briéger : ces corps sont pour la plupart des diamines, c'est-à-dire qu'ils résultent de la substitution d'un radical methyl éthyl, etc alcoolique à deux atômes d'hydrogène dans deux molécules d'ammoniaque, ils répondent à la formule générale suivante :

$$Az^2 \left| \begin{matrix} H^2 \\ H^2 \\ H^2 \end{matrix} \right. + R + R' = Az^2 \left| \begin{matrix} R+R' \\ H^2 \\ H^2 \end{matrix} \right.$$

2°. Les ptomaines acycliques oxygénées telles que la Névrine, la choline et toutes les ptomaïnes de Griffiths , elles dérivent presque toutes de la substitution d'un radical d'acide à un atôme d'hydrogène dans une molecule d'ammoniaque et peuvent se ranger parmi les amides ou des corps plus complexes tels que les acides amidés, les dérivés nitrosés etc.

3°. Enfin les ptomaïnes cycliques telles que la collidine, la parvoline et les ptomaïnes de Gautier ce sont pour la plupart des

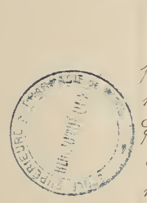
des bases pyridiques ou hydropyridiques.

Elles résultent de la substitution d'un ou plusieurs radicaux d'alcool à un ou plusieurs atomes d'hydrogène dans la pyridine et répondent au type suivant.

CH				CR	
CH	CH	+R =	CH	CH	
CH	CH		CH	CH	
Az				Az	

IIe Partie.

Étude des principaux Alcaloïdes d'origine Microbienne.



Il nous reste à faire la monographie des principaux alcaloïdes d'origine microbienne connus et pour le faire d'une façon rationnelle, nous diviserons cette étude en deux parties : dans la première nous étudierons les alcaloïdes cadavériques qui ont été isolés et obtenus dans un état de pureté suffisant pour les soumettre à une étude chimique sérieuse, ce sont les alcaloïdes produits par les microbes zymogènes ; dans la 2e partie nous étudierons les microbes pathogènes et là souvent l'étude chimique sera imparfaite et parfois nulle, l'expérimentation physiologique seule interviendra et souvent même les corps dont nous signalerons l'existence n'ont été obtenus

dans

les cultures que mélangés avec les toxines diastasiques dont nous avons déjà parlé aussi appelerons-nous cette catégorie de corps: Alcaloïdes indéterminés et nous les classerons suivant le microbe ou la maladie dont ils sont caractéristiques.

1° Alcaloïdes putréfactifs

Nous avons vu que ces corps prennent naissance dans la décomposition à l'air libre des matières albuminoïdes des animaux, nous les diviserons d'abord en deux grandes catégories: ceux qui sont liquides et non oxygénés, et les alcaloïdes solides et oxygénés.

Nous étudierons à part les alcaloïdes cadavériques et ceux que Brieger a retiré du fromage et de la gelatine, etc...

1° Alcaloïdes cadavériques: Ptomaïnes non oxygénées

Collidine $C^8H^{11}Az$ ou $C^6H^5CH\left\langle{}^{CH^3}_{AzH^2}\right.$

C'est le premier alcaloïde cadavérique nettement caractérisé comme espèce chimique, elle a été découverte en 1876 par Nencki qui la retire des produits de putréfaction de 600 grammes de gelatine et de 200 gr. de pancréas de boeuf et 10 litres d'eau, c'est seulement dans ces conditions qu'elle se forme et la présence du pancréas est absolument necessaire.

nécessaire (Brieger, Oechsner de Coninck a retiré également cette ptomaïne des produits de putréfaction des poulpes marins.

Propriétés. ——— C'est un liquide jaunâtre, assez mobile, d'odeur vireuse, très peu soluble dans l'eau, soluble dans l'alcool et dans l'éther; sa densité est 0.9865. il bout à 202° sans décomposition.

Elle n'est pas identique avec la collidine de synthèse obtenue par Brieger en chauffant en vase clos l'aldehydrate d'ammoniaque

Elle s'hydrate rapidement à l'air en brunissant, elle donne des sels bien cristallisés très déliquescents et très solubles dans l'eau avec les hydracides.

Ces sels sont précipités de leurs solutions par le chlorure de platine et le précipité se redissout à chaud, il en est de même avec le chlorure d'or et les deux nouveaux sels formés sont peu stables.

Nencki considérait cette base comme un isophenyethylamine mais dans une note présentée à l'académie des Sciences le 7 Janvier 1889, Oechsner de Coninck rangea cette ptomaïne dans les bases pyridiques à la suite des expériences suivantes: il oxyda cette base par le permanganate de potasse puis obtint une solution aqueuse qui traitée par un excès d'acide chlorhydrique puis par le chlorure de platine.

Le précipité formé traité par l'eau bouillante s'est comporté comme le chloroplatinate de pyridine dans les mêmes conditions. Oechsner admit

admit que l'oxydation avait amené la formation d'un acide pyridinocarboné présentant les principaux caractères de l'acide nicotianique et cet acide decomposé avait donné de la pyridine. Il résulterait de ces expériences que la collidine putréfactive serait une propylpyridine.

Parvoline. $C^9H^{13}Az$.

Découverte par M.rs A. Gautier et Etard qui en indiquèrent la préparation et les propriétés dans une note à l'Académie des Sciences le 12 Juin 1882.

Ils la retiraient des premiers extraits chloroformiques des produits de putréfaction du scombre préparés suivant la méthode que nous avons exposée précédemment et ils la décrivaient comme un « liquide huileux, incolore, bleuissant le tournesol, saturant les acides forts donnant avec les acides nitrique, chlorhydrique, le ferricyanure de potassium et les sels ferriques les réactions caractéristiques des ptomaïnes; précipitant le brôme, l'iode, les phosphomolybdates etc... se résinifiant à l'air, donnant un chlorhydrate cristallisé en feuilles de fougère et en cristaux de neige, un chloroplatinate cristallisé peu soluble. Son odeur rappelle celle de l'aubépine.

Ils

Ils donnaient comme composition centésimale du chloroplatinate de cet alcaloïde : C = 31.8 _ H = 4 _ Az = 5.1 _ Pt = 29.3 ce qui correspond sensiblement à la formule brute $(C^9H^{13}Az\,HCl)^2\,Pt\,Cl^4$ et pour l'alcaloïde : $C^9H^{13}Az$ ou $C^6H^5 - C^3H^6\,AzH^2$

Outre les propriétés signalées par les auteurs dans leur mémoire nous dirons que la parvoline bout entre 195 et 200° qu'elle est légèrement soluble dans l'eau, très soluble dans l'alcool, l'éther et le chloroforme.

Elle est probablement identique avec le produit obtenu par Waagi en chauffant à 200° en tube scellé le mélange d'ammoniaque et d'aldehyde propionique et on peut admettre qu'elle se comporte comme une butylpyridine.

Hydrocollidine $C^8H^{11}Az$.

Historique : Dans le mémoire que nous venons de citer, MM. Gauthier et Etard annonçaient également que les derniers extraits chloroformiques des produits liquides de la putréfaction du scombre leur avaient fourni un alcaloïde bouillant à 210° et la formule établie d'après l'analyse élémentaire se rapprochait de $C^8H^{11}Az$; mais l'analogie des propriétés de ce corps avec l'hydrocollidine de Cahours

et

et Etard leur fit adopter la formule $C^8H^{13}Az$. On la rencontre abondamment dans les produits résultant de la putréfaction de la viande de bœuf et de cheval et en général de toutes les matières albuminoïdes

L'hydrocollidine fut obtenue par Messieurs Cahours et Etard en traitant la nicotine par le sélenium; ils maintenaient un mélange de 100 g. de nicotine et de 20 gr de selenium dans un ballon et chauffaient à l'ebullition jusqu'à cessation de la formation de cristaux qui au rouge se décomposent.

Le résidu décanté pour le séparer du selenium est distillé; la liqueur huileuse qui distille est debarassée du selenium qui reste par addition d'une solution de soude concentrée suivie d'une distillation dans un courant de vapeur d'eau. On commence à recueillir l'eau de condensation quand elle devient laiteuse et on continue tant que les alcaloïdes distillent. On neutralise les liqueurs avec de la soude, on agite avec de l'ether et la solution etheree est evaporée et le résidu soumis à une distillation fractionnée et vers 205° distille un corps dont la formule répond à celle de l'hydrocollidine

Oeschner de Coninck a obtenu de son côté l'hydrocollidine en traitant la collidine par le phosphore et l'acide iodhydrique en vase clos.

Propriétés. — Qu'elle résulte de l'une quelconque de ces préparations, l'hydrocollidine se présente sous

sous la forme d'un liquide ambré, limpide, légèrement oléagineux, doué d'une odeur pénétrante et tenace de syringa et d'une saveur brûlante.

Sa densité est voisine de celle de l'eau, elle bout à 205°.

Insoluble dans l'eau mais soluble dans l'alcool et l'éther.

Elle brunit et devient visqueuse à l'air et attire l'acide carbonique.

Elle est soluble dans les acides étendus et donne un chlorhydrate cristallisé en fines aiguilles soluble dans l'eau et l'alcool et qui se résinifie par un excès d'acide.

Le bichlorure de mercure précipite en blanc ses solutions salines à froid, le chlorure d'or donne un précipité jaune soluble à chaud et cristallisant par refroidissement. il en est de même du chlorure de platine.

C'est une substance très toxique, sept milligrammes suffisent pour tuer un oiseau en produisant des tremblements, des convulsions, des contractions tétaniques et la mort avec le cœur en diastole.

Base $C^{17}H^{38}Az^{4}$

Les eaux mères qui résultaient des opérations ayant fourni à Messieurs Gautier et Etard l'hydrocollidine contenaient le chloroplatinate d'une base présentant la composition centésimale suivante:

suivante : $C = 28.73$ $H = 5.81$, $Az = 7.19$ - $Pt = 27.93$ - $Cl : 30.50$ ce qui donne pour sa formule $(C^{17}H^{38}Az^{4}\ 2HCl)\ PtCl^{4}$

Le chloroplatinate soluble dans l'eau cristallise en aiguilles jaunes ; il subit une décomposition lente à 100° en dégageant une odeur de syringa.

Base $C^{10}H^{15}Az$.

Découverte par Messieurs Guareschi et Mosso en 1863 qui annoncèrent cette découverte dans les Archives italiennes de Biologie : ils l'obtinrent en traitant par la méthode de Messieurs Gautier et Etard la fibrine de bœuf putréfiée depuis 3 mois l'analyse leur donna des résultats variables mais les propriétés la plaçant à côté des bases pyridiques, ils adoptèrent la formule $C^{10}H^{15}Az$.

En juin 1886, Monsieur Oechsner de Coninck ayant étudié les produits résultant de la putréfaction de 41 douzaines de poulpes abandonnés à l'air libre près de Thau trouva dans ces produits prelevés après trois semaines des ptomaïnes que nous verrons plus loin et dans les produits plus avancés deux bases répondant aux formules $C^{8}H^{11}Az$ identifiée avec la collidine déjà étudiée et $C^{10}H^{15}Az$ identique avec la base Guareschi et Mosso

Propriétés. —— C'est un liquide huileux, à légère odeur

odeur de pyridine, très alcalin peu soluble dans l'eau très facilement résinifiable.

Elle précipite en blanc jaunâtre avec les acides phosphomolybdique et phosphotungstique; en blanc avec le bichlorure de mercure; les précipités sont amorphes avec l'acide picrique et le tannin. Elle fournit très nettement la réaction Brouardel Boutmy.

Son chlorhydrate qui cristallise en fines lames incolores légèrement déliquescentes donne avec le chlorure d'or un précipité cristallin fortement réductible et avec le chlorure de platine un précipité abondant cristallin inaltérable à 100 degrés

Neuridine $C^5H^{14}Az^2$

Historique: Découverte par Brieger en 1884 dans les produits résultant de la putréfaction de la viande de cheval, ce savant la rencontra successivement dans les produits de décomposition de la morue, du fromage, de la gélatine, des cadavres (du 3e au 15e jour) et constata sa présence dans le cerveau humain. Des constatations faites avec le jaune d'œuf Brieger émit une hypothèse sur la manière dont se forme la neuridine, hypothèse que nous avons rapportée précédemment.

préparation: Brieger appliqua à la viande de cheval, à la morue, à la gélatine et au fromage

tromage les deux méthodes que nous avons étudiées au chapitre spécial et c'est ainsi qu'il obtint la neuridine.

Propriétés physiques: La Neuridine obtenue sous forme de chlorhydrate est extrêmement soluble dans l'eau, insoluble dans l'alcool absolu, l'éther, le chloroforme, l'éther de pétrole, la benzine et l'alcool amylique quand le sel est pur.

Propriétés chimiques: Elle donne avec l'acide phosphotungstique un précipité blanc amorphe soluble dans un excès de réactif, avec l'acide phosphomolybdique un précipité blanc cristallin et un précipité blanc floconneux avec l'acide phosphoantimonique.

L'acide picrique donne lentement un précipité se transformant rapidement en belles aiguilles jaunes assez solubles dans l'alcool, non fusibles mais brunissant à 230° en émettant des vapeurs et se charbonnant à 250°.

La faible solubilité du picrate de Neuridine est utilisée pour séparer cette base de la choline qui l'accompagne souvent mais dont le picrate et l'aurate sont plus solubles que les sels correspondants de Neuridine.

L'iodure double de bismuth et de potassium donne un précipité rouge amorphe tandis que le chlorure d'or donne un précipité cristallin.

La soude la dédouble en di et triméthylamines, ce qui a permis d'établir sa constitution.

La

La Neuridine ne donne pas la réaction Brouardel Boutmy et pure elle n'est pas toxique.

Nous avons parlé des expériences de Brieger établissant le mode de formation de la neuridine, il nous reste à dire quelques mots de sa constitution ou du moins des hypothèses faites à ce sujet. Brieger ayant constaté son dédoublement en di et triméthylamine essaya de l'identifier avec l'amylène diamine et avec la neurine dont nous parlerons, mais l'expérience n'a pas permis d'affirmer cette identité. C'est une diamine et non une pyridine.

Cadavérine $C^5H^{16}Az^2$

Découverte par Brieger qui la retira des produits de putréfaction d'organes humains en même temps que la Neuridine à partir du 3e jour de putréfaction elle a été trouvée par Finkler et Prior dans les cultures du microbe du choléra nostras et dans les bouillons de culture du microbe du choléra, Bocklisch l'a retirée de la saumure des harengs et Oeschner de Coninck des produits de putréfaction des poulpes et Udranszki Baumann et Brieger dans l'urine des cystinuriques.

Enfin Ladenburg l'identifia avec la pentaméthylène diamine de synthèse.

Préparation : 1° Brieger l'a isolée par sa méthode générale précitée ; 2° Les Observateurs qui

qui l'ont retiré de l'urine additionnaient l'urine de 24 heures de 1/8 d'une solution de soude à 10/100. puis l'agitaient avec 20 ou 25 C³ de chlorure de benzoïle jusqu'à disparition de l'odeur de chlorure. Les phosphates se précipitent avec les benzoïles de diamines, on fait digérer le précipité avec de l'alcool et le liquide filtré est concentré puis versé dans 30 fois son poids d'eau. Les benzoyldiamines cristallisent en aiguilles par le repos. On dissout ces cristaux dans l'alcool puis on verse cette solution dans 20 fois son poids d'éther qui garde en solution la cadavérine tandis qu'une autre base se précipite.

3° La synthèse de cet alcaloïde a été faite en faisant agir l'hydrogène naissant sur le cyanure de trimethylène $CAz\ (CH^2)^3\ CAz + 4H^2 = C^5H^{14}Az^2$

Propriétés: C'est un liquide épais, sirupeux, transparent, dont l'odeur rappelle celle de la conine absorbant l'acide carbonique de l'air pour donner un carbonate cristallisé. Elle bout entre 120 et 150° et sa densité est 0,9174. Elle est soluble dans l'eau et l'alcool moins soluble dans l'éther

Elle donne avec les acides chlorhydrique et sulfurique des sels cristallisés en aiguilles, solubles dans l'eau, et l'alcool ordinaire et l'éther alcoolisé mais insolubles dans l'alcool absolu et l'éther pur. Le chlorhydrate se décompose à chaud en ammoniaque, acide chlorhydrique et pipéridine.

Le chlorate de potasse donne dans les solutions de Cadavérine un précipité jaune orangé soluble à chaud

chaud.

Avec le chlorure d'or on obtient un sel cristallisé en aiguilles brillantes ou en cubes deliquescents. On obtient également des precipités avec le chlorure mercurique, l'acide picrique.

Elle donne la réaction Brouardel-Boutmy.

Chauffée avec la potasse alcoolique et le chloroforme elle ne donne pas de carbylamine.

Traitée par l'iodure de méthyle en présence de l'alcool méthylique elle donne un iodhydrate de dimethylcadavérine.

Propriétés physiologiques. — Elle est peu toxique quand elle est pure, mais injectée sous la peau elle produit la narcose des tissus et amène la formation de pus en l'absence de microbes.

Putrescine $C^4H^{12}Az^2$

Cette base découverte par Brieger et trouvée par Boecklisch dans la saumure de hareng accompagne toujours la cadavérine, elle est surtout abondante du 4e jour de la putréfaction au 20e jour.

Préparation — Elle se prépare par la méthode de Brieger et la seule difficulté de l'opération est sa séparation d'avec la cadavérine car leurs combinaisons mercuriques, platiniques sont également solubles.

On peut les séparer soit en utilisant les differences de solubilité des chloraurates de putrescine peu solubles tandis que celui de cadavérine

cadaverine est très soluble dans l'eau, soit encore en traitant les chlorhydrates des deux bases par l'alcool à 96° bouillant qui les dissout mais qui par refroidissement abandonne les aiguilles de chlorhydrate de putrescine.

propriétés physiques. Liquide limpide, mobile, d'odeur spermatique rappelant celle des bases pyridiques, bouillant à 135° et difficilement entrainée par les vapeurs d'eau. Elle absorbe assez rapidement l'acide carbonique de l'air en donnant un carbonate de putrescine cristallisé.

propriétés chimiques: Elle présente toutes les réactions des alcaloïdes : ainsi elle précipite en blanc par l'acide phosphotungstique, mais le précipité est soluble dans un excès de réactif, en jaune par l'acide phosphomolybdique; l'iodure double de mercure et de potassium donne un précipité oléagineux devenant cristallin, il en est de même des iodures doubles de bismuth et de potassium de cadmium et potassium; l'acide picrique et le tannin donnent des précipités blancs sales. Elle ne donne pas la réaction Brouardel Boutmy

Elle forme avec les acides des sels cristallisés: un chlorhydrate non hygroscopique insoluble dans l'alcool absolu, un chloroplatinate insoluble il en est de même du chloraurate.

Le chlorhydrate de putrescine chauffé avec de l'azotate de potasse donne une huile soluble dans l'eau d'où l'éther l'extrait, cette solution éthérée donne avec le phénol et l'acide sulfurique la réaction des dérivés nitrosés et Brieger admet pour sa formule $C^2H^4 \begin{matrix} \nearrow AzH\,CH^3 \\ \searrow AzH\,CH^3 \end{matrix}$ (1)

H

(1) ce serait donc un ethylenedimethyldiamine.

Il en résulte que cette base est une diamine secondaire probablement l'ethyldimethyldiamine. Elle n'est pas toxique quand elle est pure.

Saprine.

Dans les conditions où il avait rencontré la putrescine, Brieger isola une quatrième diamine dont la composition centésimale est identique à celle de la cadavérine mais qui s'en distingue par un certain nombre de propriétés.

Préparation : Presque toujours mélangée avec la putrescine on peut la séparer de cette base en décomposant le précipité mercurique des deux bases par l'hydrogène sulfuré. On filtre, puis on évapore, on reprend le résidu par l'alcool qui dissout le chlorhydrate de cadavérine et laisse intact le chlorhydrate de putrescine. On concentre la liqueur, on précipite par le chlorure de platine, on dissout le chloroplatinate dans l'alcool, on concentre et tandis que le chloroplatinate de cadaverine se dépose d'abord le chlorhydrate de saprine ne se dépose que vers la fin de l'opération.

Propriétés : Nous n'indiquerons ici que celles qui permettent de la distinguer de la cadavérine les autres propriétés leur étant communes.

Le chloroplatinate de saprine est plus soluble dans l'eau et dans l'alcool que celui de cadavérine comme nous l'avons constaté dans la séparation

la séparation de ces deux bases.
Le premier cristallise en aiguilles soyeuses groupées parallèlement tandis que le second se présente sous la forme rhomboédrique. Le chlorhydrate de cadavérine se liquéfie à l'air ce qui n'est pas le cas du chlorhydrate de saprine. Le chloraurate de cadavérine cristallise en aiguilles solubles tandis que la saprine n'est pas précipitée par le chlorure d'or. — Elles donnent la réaction Brouardel Boutmy. mais la saprine la donne plus énergiquement. Tandis que le chlorhydrate de cadavérine donne une coloration rouge brun avec l'acide sulfurique et le bichromate de potasse, la saprine ne la donne pas.
La saprine est entraînée par la vapeur d'eau, n'est pas décomposée par la potasse, elle donne un précipité amorphe avec l'iodure double de potassium et de bismuth.
Elle est également peu toxique

Mydaléine

Isolée par Brieger dans les eaux mères d'où il avait extrait les quatre ptomaïnes précédentes: elle ne se développe qu'au 7e jour de la putréfaction et devient surtout abondante vers le 21e jour.

Préparation: Le platinate de mydaléine reste dans les eaux mères dont on a extrait la saprine et

et se dépose sous forme de fines aiguilles par une concentration extrême des liqueurs. On le purifie par des cristallisations répétées dans l'eau tiède.

Propriétés : _ Brieger ne l'ayant obtenue qu'en très petite quantité ne put la caractériser chimiquement ni surtout en établir la formule rationnelle: il la considéra cependant comme une diamine à 4 ou 5 atomes de carbone.

Elle donne avec le bichlorure de mercure un précipité qui n'est complètement insoluble que dans l'alcool absolu.

Son chlorhydrate difficilement cristallisable précipite par le chlorure de platine, l'acide phosphotungstique et phosphomolybdique et donne des précipités huileux avec le chlorure d'or, les iodures doubles et l'acide picrique.

Il donne très nettement la réaction Brouardel Boutmy.

Propriétés physiologiques : Elles ont très bien été étudiées par Brieger et ce sont elles qui à défaut de caractères physiques et chimiques suffisants permettent de caractériser la mydaleine

C'est une base très toxique amenant la secrétion salivaire, et nasale et lacrymale, la dilatation des pupilles devenant insensibles à la lumière, l'injection des muqueuses, une élévation de température de 1 a 2°, la respiration s'accélère puis la somnolence et la mort survient : elle est précédée de la paresie des membres. Le cœur s'arrêtait en diastole.

Les diamines que nous venons de passer en revue sont celles que caractérisent la putréfaction des viandes jusqu'au 21e jour, mais après cette époque elles finissent par se détruire à leur tour et par être remplacées par la triméthylamine comme nous l'avons vu précédemment et par des bases qui n'ont pu être extraites en assez grandes quantités pour être étudiées : telle une base distillant vers 285° du mélange riche en carbures qui constitue le résidu des opérations précédentes ; cette base donne un chlorhydrate en aiguilles très soluble fournissant des précipités huileux avec le chlorure d'or et l'acide picrique, formant un sel double soluble avec le chlorure de platine et donnant très nettement la réaction Brouardel Boutmy

On trouve même dans les eaux mères de cette dernière base des produits alcaloïdes probablement de la même famille mais qui n'ont pas été étudiés ni séparés.



Ptomaïnes Oxygénées.

Névrine ou Neurine $C^5H^{13}AzO$ et Choline $C^5H^{15}AzO^2$.

Historique : — les deux bases qui ont été longtemps confondues et que certains auteurs se refusent encore à séparer présentent entre elles de telles affinités que nous les étudierons simultanément en indiquant quand il y aura lieu les caractères qui les différencient.

Strecker en 1849 extrait de la bile de porc une base qu'il envisagea comme oxyethyltrimethylamine et à laquelle il attribua la formule $C^5H^{15}AzO^2$; Wurtz vérifia cette constitution en faisant la synthèse de la choline avec l'oxyde d'ethylène l'eau et la trimethylamine ce qui l'amenait à admettre comme formule de constitution pour la choline $\frac{(CH^3)^3}{C^2H^4OH} > AzOH$ hydrate de trimethylhydroxylethylène ammonium

Liebreich en 1865 avait isolé de son côté en traitant le protagon par l'eau de baryte une base dont le chloroplatinate avait pour formule $(C^5H^{13}Az\,HCl)^2\,Pt\,Cl^4$ formule que Brieger en 1866 transforma par des analyses plus exactes en $(C^5H^{14}AzOCl)^2\,Pt\,Cl^4$ correspondant à la base

$$C^5H^{12}AzOH = \frac{CH^{3\,3}}{C^2H^3} > AzOH$$ hydrate de trimethylethylammonium

trimethyethylammonium ou Neurine.

Il est d'ailleurs facile de transformer la choline en neurine par les réactions suivantes :

$$\begin{matrix}(CH^3)^3 \\ C^2H^4OH\end{matrix} > AzOH + 2HI = 2H^2O + \begin{matrix}(CH^3)^3 \\ C^2H^4I\end{matrix} > AzI.$$

Cet iodure décomposé par l'oxyde d'argent donne la Névrine $\begin{matrix}(CH^3)^3 \\ C^2H^3\end{matrix} > AzOH$

La même transformation s'opère en chauffant 5 ou 6 heures le chlorhydrate ou le chloroplatinate de choline avec HCl.

Du reste Liebreich admit que les deux bases se formaient successivement dans la putréfaction des matières albuminoïdes et par dédoublement de la lécithine.

Quoiqu'il en soit ces deux bases ont été retirées par Brieger dans les cadavres humains, par Boecklisch de la saumure des harengs, par Griess et Haroni du houblon etc..

Brieger admet que dans la putréfaction la lécithine se dédoublant produit de la choline qui à son tour donne de la névrine dont le dédoublement produirait les autres bases animales, ce qui n'a pu être prouvé dans les expériences de laboratoire.

Propriétés :- Ces deux bases sont des liquides sirupeux, solubles dans l'eau, très alcalins et susceptibles de donner des sels bien cristallisés.

Soumise à l'action de la chaleur, la choline se dédouble en glycol de trimethylamine :

$$C^5H^{15}AzO^2 = C^2H^6O^2 + (CH^3)^3Az$$

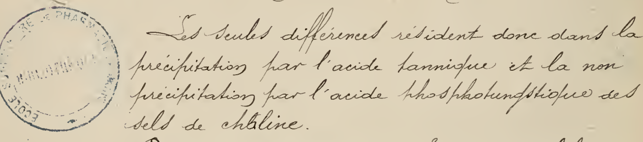
L'acide nitrique concentré transforme la choline

en muscarine

en muscarine.

En Résumé la Nevrine serait de la choline moins une molécule d'eau, résumons ici dans un tableau les propriétés des deux bases qui ne donnent ni l'une ni l'autre la réaction Brouardel Boutmy :

	Choline :	Névrine :
Acide phosphomolybdique :	Précipité Blanc soluble dans un excès de Reactif :	Précipité Blanc insoluble
A. phosphotungstique :	Rien	- d° -
A. phosphoantimonique :	Précipité blanc	
Iodure de mercure et potassium	Précipité blanc jaunâtre	Précipité jaune cristallin
- d° - de cadmium et potassium	- d° -	-
- d° - bismuth potassium	Précipité rouge amorphe	Précipité rouge amorphe
Iodure potassium iodé acide iodhydrique	Précipité Brun amorphe	Précipité brun Grumeleux
Acide Tannique	Précipité volumineux Blanc	Rien
Chlorure Mercurique	Précipité Blanc	Précipité Blanc



Les seules différences résident donc dans la précipitation par l'acide tannique et la non précipitation par l'acide phosphotungstique des sels de choline.

Propriétés physiologiques : La Neurine libre et ses sels sont très toxiques 4 milligrammes suffisent pour tuer un lapin en produisant la paralysie, l'arrêt du cœur en dyastole, l'hypersecretion des glandes, l'accélération puis le ralentissement

ralentissement de la respiration, la contraction de la pupille, des convulsions tetaniques et de la diarrhée.

La choline produit les mêmes effets mais avec 10 fois moins d'intensité.

L'atropine est le meilleur antidote de ces deux substances.

Muscarine $C^5H^{13}AzO^2$

Découverte dans la fausse oronge par **Schmiedeberg** et **Koppe** en 1870 ~~elle~~ son existence dans les produits de la putréfaction des viandes a été signalée par Mr A **Gautier** en 1878 et elle a été isolée de la chair de poisson putréfiée par **Brieger** dans les eaux mères privées du chloroplatinate d'ethylenediamine. Sa synthèse a été faite par **Schmiedeberg** et **Hurnack** en oxydant comme nous l'avons vu la choline par l'acide azotique à chaud et en précipitant le liquide résultant par le chlorure de platine. La choline perd ainsi deux atômes d'hydrogène et donne la muscarine qu'on peut envisager comme une oxyneorine.

propriétés physiques:- La Muscarine est un solide cristallisé, très deliquescent attirant l'acide carbonique de l'air pour former un ~~Al~~ carbonate cristallisé. Soluble en toutes proportions dans l'eau et dans l'alcool, insoluble dans l'éther et très peu soluble dans le Chloroforme.

Propriétés.

Propriétés chimiques : Forme des sels cristallisés avec les acides, elle précipite les sels de fer et de cuivre, elle donne avec l'eau bromée un précipité qui se redissout. Elle précipite par le chlorure de platine et le chlorure d'or en donnant des sels cristallisés.
La formule développée de ce corps : $\begin{matrix}(CH^3)^3 \\ C^2H^2OH\end{matrix} > AzOH$ montre qu'elle possède un groupement aldehydique, et sera réductrice aussi donne-t-elle la réaction Brouardel Boutmy.
Propriétés physiologiques : C'est un poison énergique qui admet comme antidote l'atropine.

Gadinine $C^7H^{16}AzO^2$.

Découverte par Brieger qui la retira des produits de putréfaction de la morue en précipitant par le chlorure de platine les eaux mères qui avaient déja fourni la muscarine.
Propriétés : Elle donne avec l'acide chlorhydrique un sel cristallisé en grosses aiguilles incolores très solubles dans l'eau, insolubles dans l'alcool. Les solutions de ce chlorhydrate sont précipitées par le chlorure de platine en aiguilles jaune d'Or, par les acides phosphomolybdique, phosphotungstique et par l'acide picrique.
Elle n'est pas toxique.
L'existence des quatre bases oxygénées dans les produits résultant de la putréfaction de la chair de poisson explique les accidents toxiques

toxiques signalés après l'ingestion de poissons mal conservés. D'ailleurs Anrep prof. à Kharkoff étudiant en bloc les produits résultant de cette putréfaction avait obtenu les principales réactions des ptomaines

Bases $C^7H^{18}Az^2O^6$ et $C^5H^{12}Az^2O^4$

Ces deux bases ont été découvertes en 1884 par Monsieur le Professeur Pouchet déjà connu par des travaux sur les alcaloïdes putréfactifs qui font le sujet de sa thèse d'agrégation.

Dans une note publiée en mars 1884 il constata l'analogie qui existe entre les ptomaïnes et une nouvelle série de bases découvertes dans les organes du corps sain (leucomaïnes) ou malade (toxines).



Appliquant la méthode suivante à des résidus provenant du traitement par l'acide sulfurique de débris d'os et de viandes il obtint ces deux bases : ces résidus étaient réduits en pulpe et traités par de l'alcool et le mélange additionné d'une quantité suffisante d'acide citrique pour donner une réaction légèrement acide. Le tout était mis en digestion à 50° pendant quelques heures et agité fréquemment. On passe sur une toile et on exprime le résidu solide. On évapore à 40° environ en consistance de

sirop

sirop, on additionne de 10 à 15 fois son volume d'alcool à 95°. – Il se forme un précipité qu'on sépare. On distille pour retirer l'alcool et la liqueur épuisée par le pétrole pour enlever les matières grasses. Elle est ensuite additionnée de bi-carbonate de soude puis épuisée par la benzine, le chloroforme et l'alcool amylique qui séparent les alcaloïdes en bloc, on évapore ces solutions et le résidu ~~sera~~ dialysé ou traité par le tannin et l'hydrate de plomb puis l'alcool bouillant.

Sur le dialyseur reste un mélange de bases hydropyridiques analogues à celles de Messieurs Gautier et Étard quant aux produits solides ils donnent deux chloroplatinates assez solubles dans l'eau, cristallisés l'un en aiguilles prismatiques répondant à la formule $(C^7H^{18}Az^2O^6HCl)_2 PtCl^4$ presque insoluble dans l'alcool fort, l'autre est sous forme de poudre jaune et répond à la formule $(C^5H^{12}Az^2O^4HCl)^2 PtCl^4$ soluble dans l'alcool mais insoluble dans l'éther et dans un mélange d'éther et d'alcool.

En faisant réagir l'acide sulfhydrique sur ces deux chloroplatinates on obtient deux bases cristallisées, altérables par l'acide chlorhydrique en excès au contact de l'air.

La première de ces bases $C^5H^{12}Az^2O^4$ se présente sous forme d'aiguilles groupées en pinceaux peu altérables tandis que l'autre $C^7H^{18}Az^2O^6$ est en prismes gros brunissant à la lumière et s'altérant à l'air.

Leurs solutions aqueuses précipitent par l'acide

l'acide phosphomolybdique et le précipité réductible est soluble dans l'ammoniaque en donnant une coloration bleue. Elles se comportent comme des oxybelaïnes.

Ce sont deux bases toxiques abolissant les mouvements reflexes.

Mydatoxine $C^6H^{13}AzO^2$.

Découverte par Brieger dans les produits de putréfaction des cadavres humains et de la viande de cheval. Elle accompagne souvent la cadavérine et la putrescine. Elle donne un chlorydrate fusible à 193° précipitable par le chlorure de platine et l'acide phosphomolybdique.

Son pouvoir toxique est peu considérable.

Mydine $C^8H^{11}AzO$.

Extraite des viscères humains par Brieger elle est peu stable et se décompose par la chaleur, elle constitue une réaction énergique agissant sur le Chlorure d'Or et donnant la réaction Brouardel Boutmy

Elle précipite par l'addition d'acide picrique et le précipité formé est très stable et fond à 195°.

Elle

Elle est également peu toxique.

Méthylgadinine.

Elle a été trouvée par Brieger avec les bases précédentes dans les mêmes conditions et donne les mêmes réactions, elle ne s'en distingue que par sa plus grande toxicité.

Peptotoxine.

Cette substance a été isolée par Brieger en appliquant sa méthode à 200 grammes de fibrine humide soumise à l'action du suc gastrique à la température du corps.

Propriétés: — La peptotoxine est soluble dans l'eau, l'alcool amylique surtout à chaud, elle est insoluble dans l'éther, la benzine, le chloroforme.

Très stable elle résiste à l'action de la chaleur.

Elle précipite par les acides phosphomolybdique et phosphotungstique, le tannin, les iodures doubles, les chlorures d'or, de mercure et de platine, l'acide iodhydrique iodé. Elle donne la réaction Brouardel Boutmy. — Elle est peu toxique.

La peptotoxine se rapproche beaucoup des peptones

peptones, elle présente des différences essentielles d'avec les alcaloïdes mais nous avons tenu à en parler à cause de l'intérêt qu'elle présente au point de vue de l'origine des alcaloïdes microbiens. Nous avons déjà dit en effet que la peptotoxine apparait au commencement de la putréfaction de la peptone puis disparait pour faire place aux bases que nous avons étudiées: elle semble donc être le stade de décomposition par lequel les matières albuminoïdes passent pour être décomposées par les bactéries.

Mytilotoxine $C^6H^{15}AzO^2$

Cette substance a été isolée des moules avariées par Brieger.

Propriétés: —— Elle est résineuse, soluble dans l'eau, elle donne un chlorhydrate cristallisé fondant à 182°, elle précipite par le chlorure d'or.

C'est une substance toxique qui avec l'Oxycholine $C^5H^{12}AzO^2$ produit les accidents caractéristiques de l'empoisonnement par les moules.

Toutes les bases que nous venons d'étudier et qui se forment au cours de la putréfaction des matières albuminoïdes sont décomposées à leur tour sous l'influence du processus putréfactif elles

font

font place à des bases plus simples telles que les methyl di et trimethylamines et ethylamines non toxiques et identiques aux bases de même nom préparées par les procédés ordinaires de la Chimie.



Ptomaïnes produites par les microbes pathogènes et Toxines.

Ces alcaloïdes n'ayant souvent pas été suffisamment caractérisés au point de vue chimique, ni séparés les uns des autres pour être obtenus purs nous les étudierons non pas individuellement comme nous avons fait pour les précédents, mais nous les rangerons par groupes suivant le microbe qui les produit.

Microbe du Choléra.

C'est en 1883 que Koch a découvert dans les selles de cholériques le microbe qui est la cause et l'agent de propagation du choléra ; en 1884, Mr Bouchard a retiré des fèces de cholériques des substances alcaloïdiques, dont une cristallisée en longues aiguilles fines qu'il considéra comme le poison cholérique, il le caractérisa physiologiquement mais ne tenta sur lui aucune expérience chimique.

L'existence

L'existence de poisons solubles dans les cultures du bacille du choléra fut également rendue évidente par les inoculations de cultures filtrées et stérilisées faites par Koch et Cantani ; mais la première communication sur les propriétés chimiques des poisons solubles du bacille cholérique émane de Mr. Pouchet professeur à la Faculté de Médecine de Paris qui, dans une note à l'Académie des Sciences lue dans la séance du 17 9bre 1884 annonça qu'en traitant les déjections cholériques par épuisement au moyen du chloroforme, elles abandonnaient à ce dissolvant une substance huileuse facilement oxydable et entièrement toxique et qu'il déclarait être certainement une ptomaïne.

Dans une deuxième communication faite le 26 Janvier 1895 il donnait les propriétés de cette ptomaïne et la décrivait comme un liquide primitivement incolore dont l'odeur rappelle celle des bases pyridiques, facilement oxydable à l'air et plus rapidement encore sous l'action de la lumière, elle se colore alors en rose puis en brun. Elle donne une réaction franchement alcaline au tournesol et donne avec l'acide chlorhydrique un sel qui se décompose si la température s'élève ou si on l'abandonne dans le vide. Ce sel est précipité de ces solutions par les réactifs généraux des alcaloïdes et réduit immédiatement et avec une grande énergie le mélange de ferricyanure de potassium et de perchlorure

perchlorure de fer en produisant du bleu de Prusse (Réaction Brouardel Boutmy) il réduit également les chlorures d'or et de platine et ne peut par conséquent donner avec eux aucune combinaison définie

Dans le même mémoire, Mr Pouchet dit avoir éprouvé un commencement d'intoxication assez intense en isolant ce corps et en essayant de le cristalliser par évaporation ménagée au bain marie. Cette intoxication se traduisit par des accidents débutant 18 heures après l'inhalation des vapeurs et consistant en un frisson intense, prolongé avec sensation de refroidissement, irrégularité du pouls, crampes dans les membres, nausées sans vomissements ni diarrhées, anurie absolue pendant 30 heures, diabète sucré passager (3 jours) et embarras gastrique

Enfin le 24 Août 1885, Mr Pouchet annonçait dans une note à la même Académie que dans l'analyse de bouillons de cultures pure du Bacille du choléra il avait constaté la présence de traces d'un alcaloïde liquide dont l'odeur, l'altérabilité et la toxicité paraissaient identiques à ceux de la substance qu'il avait isolée des déjections des cholériques.

Dans l'intervalle de ces diverses communications Mr Berthelot avait lu dans la séance du 12 Janvier 1885 une note de Mr Villiers Professeur à l'Ecole de Pharmacie ainsi conçue : « J'ai entrepris au mois de Novembre dernier de rechercher l'existence d'alcaloïdes dans les organes de deux cholériques du service de Mr Hayem

Hayem, ces organes ayant été étudiés 24 heures après la mort pour le premier et 12 heures après la mort pour le deuxième ont donné les résultats suivants identiques: ils ont fourni par la méthode de Stas un alcaloïde nettement caractérisé par sa réaction alcaline et ses réactions chimiques, cet alcaloïde se trouvant en quantité assez considérable dans l'intestin et les reins et en quantité minime dans le foie et le sang du cœur.

Mr. Villiers le décrit comme un liquide saveur âcre d'odeur d'aubépine, nettement alcalin au tournesol et se comportant comme une base énergique qui n'est mise en liberté que par les alcalis caustiques. Elle est précipitée de ses solutions salines en blanc par l'iodure double de mercure et de potassium, en brun par l'iodure de potassium iodé (réaction très sensible) en jaune par l'eau bromée et par l'acide picrique, en blanc jaunâtre par le chlorure d'or.

Les solutions concentrées donnent un précipité en blanc avec le tannin et le bichlorure de mercure mais ne donnent rien avec le chlorure de platine.

L'acide sulfurique donne une coloration violette et la réaction Brouardel Boutmy se produit très nettement.

Le chlorhydrate de cette base est neutre, cristallisé en longues aiguilles fines transparentes et déliquescentes très toxiques pour le lapin.

Vers la même époque (1886) Ricati et Riesch opérant

opérant sur des cultures du sang et de différents organes de cholériques, Klebs et Lange avec des cultures pures du vibrion avaient obtenu deux toxines convulsivantes fixes.

Le 21 7bre 1885, le Docteur Lebon annonçait à l'Académie des Sciences qu'il avait éprouvé un commencement d'intoxication dans une pagode indienne et dans des conditions telles qu'il ne pouvait attribuer ces symptômes qu'à des ptomaïnes volatiles absorbables par les voies respiratoires, produites par le bacille du choléra et analogues aux ptomaïnes volatiles foudroyantes dont il avait signalé la formation après deux mois de putréfaction des cadavres alors que les ptomaïnes fixes ont disparu, ptomaïnes volatiles auxquelles il attribue les intoxications observées dans l'exhumation tardive des cadavres.

En 1887, Brieger appliquant ces méthodes générales aux bouillons de culture du choléra a isolé six bases: une méthylgadinine très toxique convulsivante de formule $C^2H^7Az^3$, une deuxième toxine convulsivante $C^2H^8Az^2$, une troisième toxine paralysante et produisant l'algidité, le ralentissement du cœur et de la respiration et les selles sanguinolentes; de la choline, de la cadavérine et de la putrescine.

Gamaleïa dans deux notes parues dans les comptes rendus de l'Académie des Sciences en Août 1888 dit avoir trouvé dans les cultures de bacille du choléra 2 poisons: un poison diastasique altérable par la chaleur et un poison alcaloïdique inaltérable produisant l'hypothermie

l'hypothermie et l'inflammation locale.
Winter et Lesage en 1889 ont trouvé une substance oléagineuse qui produirait la diarrhée.

Bacille de Nicolaïer ou du Tétanos.

Briéger en 1886 a tenté le premier d'isoler des cultures de bacille de Nicolaïer les produits solubles auxquels ces cultures filtrées doivent leur virulence constatée antérieurement par Nicolaïer et Rosenbach il en a isolé plusieurs alcaloïdes, savoir:

La **Tétanine** $C^{13}H^{30}Az^2O^4$ obtenue en traitant par sa méthode générale les cultures du bacille dans le bouillon. Cette base donne avec l'acide chlorhydrique un sel très déliquescent dont les solutions sont précipitées par le bichlorure de platine et l'acide phosphomolybdique en donnant des produits cristallisés. Elle produit lentement la réaction Brouardel Boutmy et est douée d'un grand pouvoir toxique dont les effets sont immédiats.

La **Tétanotoxine** $C^5H^{11}Az$ obtenue en précipitant les liqueurs résultant de la distillation des cultures alcalines du même bacille par le chlorure d'or et le bichlorure de platine. Cette base est volatile, douée d'une odeur désagréable elle bout

à

à 100° Elle est moins toxique que la précédente et ses effets ne sont pas immédiats

La Spasmotoxine dont l'analyse n'a pas été faite fond à 210° et donne un chlorhydrate cristallisé très toxique.

En 1890 Faber conclut d'expériences faites sur des cultures pures qu'outre les alcaloïdes de Brieger il existait dans ces cultures une diastase toxique détruite par le chauffage à 65° ou par l'addition d'alcool.

Quelques années plus tard Kitasato et Weyl isolèrent de cultures pures la tétanine et des traces de tétanotoxine.

Tizzoni et Cattani constatèrent en 1890 que le bacille du tétanos produit son poison dans les cultures pures sur gélatine et non dans celles qui sont faites dans le bouillon et ils confirment également l'hypothèse que ce poison était de nature diastasique.

Dans une deuxième série de recherches Brieger et Fränkel isolèrent des cultures précipitées par l'alcool absolu une toxalbumine.

Vaillard et Vincent en 1891 confirmèrent les hypothèses émises sur la nature diastasique du poison sa précipitation par l'alcool absolu et son altération par la lumière.

La conclusion des expériences physiologiques tentées par ces différents bactériologistes était que le principe tétanisant contenu dans les cultures pures du bacille de Nicolaïer est une substance soluble de nature albuminoïde se rapprochant des diastases par plusieurs caractères

caractères chimiques mais agissant sur l'organisme comme un toxique dont l'action serait comparable à celle de la strychnine.

Déjà Tizzoni et Cattani, Vaillard et Vincent avaient signalé dans les cultures filtrées à côté de la toxine pathogène un véritable ferment digestif lorsque Messieurs Courmont et Doyon dans un travail communiqué à la Société de Biologie le 11 Mars 1893 et à l'Académie des Sciences le 13 Mars donnèrent des résultats d'expériences très concluantes auxquelles nous avons déjà fait allusion.

Dans ce travail, ces observateurs affirmaient que les cultures filtrées du bacille de Nicolaïer ne contiennent pas d'alcaloïde tétanisant comparable à la strychnine mais simplement un ferment soluble capable de fabriquer cette substance aux dépens de l'organisme récepteur.

Pour eux la soi-disant toxine, c'est-à-dire le poison tétanisant extrait des cultures est pathogène par son action fermentative et non par ses propriétés chimiques et il existe toute une phase chimique intermédiaire entre l'absorption des produits microbiens et l'apparition des symptômes morbides et si une fraction d'une goutte d'une culture filtrée suffit pour tétaniser un cobaye c'est non pas parcequ'elle contient une quantité suffisante de toxine mais parcequ'elle renferme le ferment susceptible d'engendrer en quantité indéfinie cette toxine aux dépens de l'organisme du cobaye.

Le tétanos devient ainsi le résultat d'une

autointoxication

autointoxication à la suite d'une fermentation spéciale de certains tissus causée par un ferment soluble élaboré par le bacille de Nicolaïer

La phase d'incubation est nécessaire même avec des doses énormes de cultures et en hiver la grenouille reste réfractaire à ces inoculations.

Courmont et Doyon firent également l'expérience suivante : ils inoculèrent à un chien une certaine dose de culture, après la période d'incubation variable dans sa durée de 16 à 20 heures, l'animal fut pris d'accès tétaniques, ils prélevèrent alors une certaine quantité de son sang pour le transfuser à un autre chien qui présenta un accès de tétanos <u>immédiat</u> bientôt suivi d'un calme pouvant faire croire à la guérison et coïncidant avec l'élimination totale des toxines contenues dans le sang injecté, puis bientôt une nouvelle attaque se déclare après la période d'incubation et l'animal meurt intoxiqué par la toxine produite en second lieu au dépens de son organisme.

C'est une toxine dont les effets sont identiques à ceux de la strychnine qui a été isolée des muscles tétanisés par Brieger (dans le bras d'un amputé) et par Courmont et Doyon qui l'ont trouvée en moindre quantité dans le sang qui donne le tétanos à la grenouille même en hiver. Elle résiste à l'ébullition prolongée tandis que les produits solubles des cultures sont rendus inactifs à 65°.

De cette série d'expériences Courmont

et

et Doyon tirèrent les conclusions suivantes :

1° Le bacille de Nicolaïer engendre le tétanos par l'intermédiaire d'un ferment soluble qu'il fabrique.

2° Ce ferment qui n'est pas toxique par lui même élabore aux dépens de l'organisme une substance directement tétanisante comparable par ses effets à la strychnine.

3° Cette dernière substance se trouve en abondance dans les muscles tétanisés, elle existe aussi dans le sang et quelquefois dans les urines.

4° Elle résiste à une ébullition prolongée tandis que les productions bacillaires deviennent inactives après un chauffage à 65°.

5° Elle exige pour se former des conditions favorables de température

6° L'immunité naturelle ou acquise et l'immunisation contre le tétanos peuvent être considérées comme les résultats des causes qui empêchent, ralentissent ou arrêtent la susdite fermentation.

La substance tétanisante à laquelle Messieurs Courmont et Doyon font allusion est probablement la tétanine que Brieger avait retirée d'un bras d'un amputé mort du tétanos ; c'est elle seule qui nous intéresse au point de vue des alcaloïdes, mais nous avons cru utile d'insister longuement sur la communication de Messieurs Courmont et Doyon à cause de l'intérêt qu'elle présente en donnant l'explication du phénomène de l'immunisation et peut être aussi la sérothérapie.

Bacille de -



Bacille de Löffler ou de la diphtérie

L'existence de substances solubles pathogènes secretées par le bacille de Löffler a du être soupçonnée par Löffler lui-même car il lui aurait été difficile sans cette hypothèse de comprendre le mode d'infection dans la diphtérie : le microbe reste en effet cantonné par où il est entré dans l'organisme c'est-à-dire sur la muqueuse pharyngée s'il s'agit de la diphtérie pharyngée, à la surface d'une érosion dermique s'il s'agit de la diphtérie cutanée ou sur la paupière ou l'œil dans le cas d'une ophtalmie diphtérique, cependant dans ces divers cas, on observe une série d'accidents généraux qui ne peuvent s'expliquer que par la dissémination d'une substance toxique extrêmement énergique dans tout l'organisme. Le problème de la découverte de cette substance fut résolu par Roux et Yersin qui dès 1888 observèrent qu'en injectant des cultures filtrées de bacille de Löeffler à des animaux on obtenait des accidents toxiques de deux sortes : avec de grandes quantités de culture, la mort était rapide tandis qu'avec de très petites quantités elle était précédée d'accidents paralytiques tardifs analogues à ceux qu'on observe dans la diphtérie de l'homme : ces

deux

deux manières différentes d'agir nous font pressentir l'existence de deux poisons différents, l'un à effets immédiats et de nature alcaloïdique, l'autre ferment soluble à effets éloignés.

Messieurs **Roux** et **Yersin** ne virent là qu'un seul poison soluble dans l'eau d'où l'alcool le précipite et détruit par l'ébullition à 100° pendant 10 minutes, ils en firent une diastase.

Briéger et **Fränkel** cultivant la bacille de la diphterie dans le bouillon et filtrant leurs bouillons de culture sur le filtre Chamberland y trouvèrent après filtration une substance albuminoïde précipitée par les sels neutres en excès tels que les sulfates de soude d'ammoniaque, précipitée par l'alcool absolu de ses solutions aqueuses, cette substance obtenue pure par des précipitations successives au moyen de l'alcool leur donna à la fois les réactions des alcaloïdes et des peptones : précipitant de ses solutions aqueuses par l'acide phosphomolybdique, les iodures doubles de potassium et de bismuth, de mercure et de potassium, les chlorures d'or et de platine, l'acide picrique, le nitrate d'argent, le bi chlorure de mercure l'acide acetique et le ferrocyanure de potassium, en donnant la réaction du biuret. Le produit ainsi obtenu tout en étant toxique l'était à un degré moindre que la toxine de Messieurs **Roux** et **Yersin**.

Mais **Briéger** et **Frankel** avaient

négligé

négligé une précaution indispensable. ils oubliaient que le bouillon de culture contenait primitivement des substances albuminoïdes et que le poison qu'ils attribuaient au bacille de Löffler pouvait bien n'être que ces matières albuminoïdes plus ou moins modifiées : c'est ce que vinrent prouver Wassermann et Proskaüer qui isolèrent d'une part une albumine jaune non toxique provenant du bouillon et d'autre part une blanche toxique mais faiblement et provenant soit de la sécrétion bacillaire soit des modifications du milieu albuminoïde sous l'influence de la vie du microbe. L'incertitude persistait quand même et c'est Mr Guinochet pharmacien de l'Hôpital de la Charité qui, dans un mémoire auquel nous avons déjà fait allusion éclairait définitivement cette question en 1891.

Monsieur Guinochet prit de l'urine et s'assura qu'elle ne contenait aucune trace d'albumine et de peptone, il l'ensemença ensuite avec le bacille de Löffler puis après quelque temps d'exposition à une température convenable, il la filtra au filtre Chamberland et l'inocula à des animaux, il obtint les mêmes résultats qu'avec les cultures dans le bouillon mais en employant trois fois plus.

Il en conclut que la toxine bactérienne de la diphtérie ne dérive pas nécessairement de matières albuminoïdes ou tout au moins qu'elle peut être élaborée en l'absence de ces matières.

Monsieur Guinochet ne put déceler de

matières

matières albuminoïdes dans ses cultures mais ne conclue pas à leur absence et se retranche derrière la faible quantité qu'elles peuvent renfermer et le défaut de sensibilité des réactifs.

Nous appliquerons à la diphtérie ce que Courmont et Doyon ont trouvé pour le tétanos qui présente dans sa marche des analogies nombreuses avec la diphtérie et nous expliquerons les divergences d'opinion et de résultats que nous venons de constater en disant que le bacille de Löffler en l'absence de toute matière albuminoïde secrète au dépens de sa propre substance une toxine diastasique dont l'action physiologique ne se manifeste qu'après une <u>incubation</u> par une fermentation amenant la transformation de materiaux albuminoïdes de l'organisme en un poison alcaloïdique dont l'effet est immédiat.

La première substance dont la toxicité ne depend pas essentiellement de la quantité injectée mais des conditions de milieu et de température favorisant la fermentation constitue la toxine de Roux et Yersin.

La deuxième substance dont la toxicité est proportionnelle à la quantité injectée est celle que Brieger, Fränkel, Wassermann, etc.... avaient obtenue impure ; cette deuxième substance a d'ailleurs été retirée des urines des malades atteints de diphtérie par Griffiths en 1891 et il la decrit comme une substance blanche cristallisée donnant des sels cristallisés avec l'acide chlorhydrique

chlorhydrique, le chlorure d'or et précipitant de ses solutions en jaune par le tannin, en blanc par l'acide phosphomolybdique, en jaune par l'acide picrique et en brun par l'iodure de potassium et bismuth; elle répond à la formule $C^{14}H^{17}Az^{2}O^{6}$.

Cette étude encore incomplète nous permet d'exposer le principe de la sérothérapie du Croup : c'est la substance diastasique atténuée par l'addition d'iode qui est injectée au cheval et il est probable que cette diastase atténuée produit au contact des matières albuminoïdes qu'elle rencontre chez le cheval des substances azotées peut être des ptomaïnes ou des toxalbumines qui constituent l'antitoxine du sérum de Roux. Nous avons commencé récemment des recherches dans ce sens, mais nous n'avons encore rien obtenu de certain.

L'étude de ces antitoxines si ce sont des alcaloïdes viendra encore compliquer le problème des alcaloïdes d'origine microbienne déjà si obscure.



Bacille d'Eberth

ou de la fièvre typhoïde.

L'Etude de la pathogénie de la fièvre typhoïde a donné lieu à beaucoup de polémiques et l'accord est loin d'être fait entre les partisans des diverses théories: c'est ainsi que Péter et son école admettaient l'autotyphisation c'est-à-dire l'infection de l'individu par l'accumulation sous l'influence d'un surmenage quelconque de substances toujours produites par l'organisme à l'état normal mais en quantité trop considérable pour être éliminées. ces substances étaient d'ailleurs à l'ordre du jour à cette époque grâce aux travaux d'Armand Gautier sur les leucomaïnes. La découverte d'un microbe agent pathogène de la fièvre typhoïde considéré comme le bacille coli commune par les uns et comme un bacille spécifique par les autres engagea les chimistes à étudier ses toxines.

Brieger en 1885 isola à plusieurs reprises des vieilles cultures de bacille typhique le chlorhydrate très déliquescent d'une base très toxique et dont la toxicité se manifestait chez les cobayes par l'augmentation de la salivation, la fréquence des mouvements respiratoires, l'impossibilité de contracter les muscles des extrémités et du tronc sans qu'il y ait de paralysie au sens vrai du mot; la

diminution

diminution des battements du cœur, des évacuations diarrhéiformes et la mort dans un délai de 24 à 48 heures.

Cette base était obtenue par précipitation des cultures avec le bichlorure de mercure. Le chlorhydrate se présentant sous la forme d'une poudre blanche soluble dans l'eau précipitant par le Chlorure d'Or mais non par le chlorure de platine, donnant un précipité blanc avec l'acide phosphomolybdique, blanc jaunâtre avec l'iodure double de potassium et de mercure, brun rouge avec l'iodure double de bismuth et potassium blanc jaunâtre avec le tannin et brun avec l'iodure de potassium iodurée.

L'analyse du sel d'Or donna 42% d'or 16 de Carbone et 3,6 d'hydrogène. Brieger appela cette substance typhotoxine et la considéra comme une triamine.

Arthur Luff en 1889 isola des urines de thyphique un alcaloïde cristallisé et présentant les réactions de la typhotoxine de Brieger et précipitant en jaune par l'acide picrique.

Garré et Freundereich en 1891, constatèrent que l'urine des typhiques contient d'autres substances douées de propriétés vaccinantes que Brieger et Frankel essayèrent d'isoler par précipitation avec l'alcool, le sulfate d'ammoniaque et la dialyse mais sans y réussir.

Bacille de la Tuberculose



La présence de substances toxiques dans le corps des bacilles de la Tuberculose avait été mise en évidence au moyen d'expériences physiologiques par Prudden et Hodenpyl par Strauss et Gameleïa, et dans les cultures de bacille par Maffucci; Arloing, Rodet et Courmont dans deux communications faites à l'Académie des Sciences les 7 Mai et 18 Juin 1888 avaient supposé que le bacille de la tuberculose secrète un poison primitif diastasique qui agit sur les tissus tuberculeux pour former un poison alcaloïde

Cet alcaloïde a été isolé du corps des bacilles par Hammerschlag et des cultures par Zuelzer.

Hammerschlag dans une note publiée le 1er Janvier 1891 dans le Centralblatt für Bacteriologie ou Parasitenkunde, annonce ainsi le résultat de ses recherches: Les substances actives contenues dans les bacilles de la tuberculose peuvent être extraites par l'alcool et l'éther qui les dissolvent et ces bacilles en contiennent en moyenne de 20 à 27/100. Ces extraits éthéroalcooliques contiennent des graisses, des lécithines et un poison qui détermine chez

chez le lapin et le cobaye des crampes.
La partie insoluble dans l'alcool et l'éther traitée par la potasse en solution donne les réactions des albuminoïdes.

Le poison précipité extrait par la méthode de Brieger a présenté les réactions des ptomaïnes.

Zuelzer dans le Berliner Klinische Wochens 26 Janvier 1891 décrit le chlorhydrate d'un alcaloïde qu'il a retiré par la méthode de Brieger des cultures de bacilles de la tuberculose : cette ptomaïne est convulsivante accélère la respiration et élève la température du corps de deux degrés environ à la dose de un centigramme.

On sait que Koch en faisant macérer des bacilles de la Tuberculose dans la Glycérine et en précipitant cette macération par l'alcool a obtenu une solution glycérinée de substances solubles du bacille de la Tuberculose qu'il avait présentée sous le nom de Lymphe de Koch comme une substance destinée à guérir la tuberculose, cette substance a été l'objet d'une étude chimique de la part de Jolles qui a publié ses résultats dans le Intern Klinische Rundschau : il conclut à l'absence d'alcaloïdes dans ce produit.

Comme on le voit l'étude chimique des produits solubles du bacille de la Tuberculose est peu avancée ce qui tient probablement à la difficulté qu'on éprouve à cultiver

ce

ce bacille dans les divers milieux artificiels

L'étude des travaux de Lebon sur les ptomaïnes volatiles des cadavres et des malades atteints du Choléra nous avait engagé à rechercher des ptomaïnes volatiles dans les produits de l'expiration des tuberculeux, nous avons dans ce but fait barbotter dans de l'eau légèrement acidulée l'air provenant de la bouche de tuberculeux. la Salive et les bacilles étaient arrêtés par une légère couche d'ouate. Le liquide ainsi obtenu est très toxique et son action toxique se manifeste par la stupeur et l'abattement suivi de mort tandis que le liquide obtenu dans les mêmes conditions chez l'homme sain est toxique également mais à dose beaucoup plus considérable et son pouvoir toxique se manifeste par l'excitation générale.

Le premier liquide traité par l'éther après neutralisation et la solution éthérée agitée avec un petit volume d'eau acidulée avec l'acide chlorhydrique nous a donné une liqueur précipitant en blanc par le bichlorure de mercure, en jaune par l'acide phosphotungstique, mais les précipités obtenus étaient trop faibles pour être recueillis et soumis à l'analyse élémentaire.

Nous nous proposons de reprendre cette étude dans des conditions qui nous

nous permettront d'obtenir des quantités plus considérables de produits.



Alcaloïdes fournis par divers Microbes ou produits au cours de diverses affections.

Broncho-pneumonie.

Dans une communication à l'Académie des Sciences lue dans la séance du 20 avril 1885, Monsieur Villiers annonçait qu'il avait retiré par la méthode de Stas des organes de deux enfants morts de Broncho pneumonie consécutive à la Rougeole, un alcaloïde liquide, volatil et possédant une odeur piquante sternutatoire, une saveur peu marquée mais une goutte de sa solution placée sur la langue détermine une sensation de cuisson et un picotement prolongé. Cette base ne réagit pas sur la teinture de tournesol elle est mise en liberté par les bichromates alcalins de l'éther peut alors l'enlever de ses solutions aqueuses.

Son chlorhydrate cristallise nettement en prismes blancs opaques, non déliquescents. Elle

Elle se rencontre surtout dans le poumon, le foie et les reins.

Dans une deuxième note lue le 11 Mai 85 Monsieur Villiers constatait la présence des alcaloïdes microbiens dans les urines de personnes atteintes de rougeole, diphtérie, pneumonie, phtisie et d'un malade atteint d'un abcès à la tête.

Fièvre puerpérale.

Bourget dans une thèse soutenue devant la Faculté de Médecine de Genève en 1887 déclare que 1º l'urine des malades atteintes de fièvre puerpérale affection causée comme on le sait par le streptocoque contient des bases très toxiques dont la production atteint son maximum pendant la période aigüe de la maladie et diminue avec les phénomènes morbides.

2º Ces bases déterminent chez les animaux les mêmes troubles que certaines ptomaïnes.

3º Les différents organes d'une malade morte de fièvre puerpérale contiennent des principes toxiques semblables par leurs effets physiologiques aux bases toxiques de l'urine.

4º Les produits extractifs présentent toutes les réactions générales des alcaloïdes végétaux et des ptomaïnes.

5º Ils peuvent dans une expertise médico légale en imposer pour un alcaloïde végétal ou tout au moins gêner les réactions spéciales de ces derniers

Dans

Dans une note à l'Academie des Sciences en 1892, Griffiths appliquant la méthode dont nous avons parlé ultérieurement isole la substance dont parle Bourget et la décrit comme une substance cristalline, blanche soluble dans l'eau et donnant une reaction alcaline et dont la composition centésimale répond à la formule $C^{22}H^{19}AzO^{2}$, elle donne un chlorhydrate et un chloraurate cristallisés et ses solutions sont précipitées en rouge par l'acide tannique, en jaune par l'acide picrique, en blanc brunâtre par l'acide phospho-molybdique.

Elle est très toxique

Charbon et Morve.

Nous avons vu que c'est l'étude du bacille anthracis agent virulent du charbon qui suggéra à Toussaint l'idée d'une action chimique des microbes. L'étude des substances chimiques secretées par le bacille anthracis fut tentée par plusieurs savants mais ce fut seulement en 1886 que Hoffa cultivant le bacille du charbon sur la viande ou dans le bouillon obtint une ptomaïne peu toxique qu'il appela anthracine.

L'étude des substances solubles des cultures de la bacterie charbonneuse fut reprise par

Martin

Martin qui publia les résultats de ses expériences le 22 Mai 1890 dans le "Proceedings of the Royal Society of London." et parmi ces produits de nature diverse se trouvait un alcaloïde entièrement soluble dans l'alcool éthylique et amylique, dans l'eau mais insoluble dans la benzine le chloroforme et l'éther.

Cet alcaloïde en se dissolvant dans l'eau lui communique une réaction fortement alcaline, aussi s'unit-il très facilement aux acides pour donner des sels bien cristallisés desquels il peut être isolé sans difficulté. Il peut être caractérisé par les réactifs habituels des ptomaïnes sauf par l'iodure double de mercure et de potassium qui ne le précipite pas.

Doué d'une toxicité faible, il perd en grande partie cette toxicité sous l'influence de l'air.

— L'étude chimique du microbe de la morve a conduit à la découverte de la malléine extrait glycériné analogue à la tuberculine dont nous avons déjà parlé et des cultures du bacille de la morve on a isolé une ptomaïne répondant à la formule : $C^{15}H^{10}Az^{2}O^{6}$, l'histoire et l'étude chimique de cette ptomaïne ne présentent rien d'intéressant car ce n'est pas à elle mais à une toxine diastasique qu'il faut rapporter les propriétés physiologiques de la Malléine si précieuse pour le diagnostic précoce de la morve latente.

Scarlatine.

Luff appliquant la méthode de Griffiths aux urines d'un malade atteint de Scarlatine isola en 1889 un alcaloïde blanc de structure semi-cristalline donnant un précipité jaune pâle avec l'acide phosphomolybdique et l'iodure double de mercure et de potassium et un précipité jaune avec l'acide picrique, mais ne précipitant pas par le tannin.

Griffiths en 1891 obtint de son côté cette base et complète ainsi sa description : cette base faiblement alcaline soluble dans l'eau forme un chlorhydrate et un chloraurate cristallisés, donne un précipité blanc avec l'acide phosphomolybdique et sa composition lui assigne la formule $C^5H^{12}AzO^4$.



Oreillons.

Griffiths en 1891 dit avoir isolé des urines d'un malade atteint d'Oreillons une ptomaïne cristallisée en aiguilles prismatiques très toxique et répondant à la formule $C^6H^{13}Az^3O^2$. Il ajoute que cette base se transforme en créatine puis en méthylguanidine.

Erysipèle.

La ptomaïne extraite en 1892 des urines des erysipelateux par Griffiths est une substance blanche cristallisant en lamelles orthorombiques soluble dans l'eau et à réaction faiblement alcaline.

Ses solutions salines donnent un précipité floconneux avec le bichlorure de mercure, grenu avec le chlorure de Zinc, ce précipité se dissout à chaud en se décomposant.

Le réactif de Nessler donne un précipité vert, l'acide picrique un précipité jaune légèrement soluble, il en est de même du chlorure d'Or. Les acides phosphomolybdique, phosphotungstique et tannique précipitent également cette base érysipeline répondant à la formule $C^{11}H^{13}AzO^{3}$. Elle est toxique (Bulletin de la Société chimique 1892)

Rougeole.

Decelé par Monsieur Villiers isolée par Griffiths en 1892 cette ptomaïne qui répond à la formule de la glycocyamidine $HAz = C\,HAz\,H^2C$ / $C\,HAz\,O^{\prime}C$ est cristallisée en petites lames

lames blanches solubles dans l'eau à réaction alcaline. Les solutions sont précipitées en aiguilles prismatiques par le bichlorure de platine et le bichlorure de mercure et en blanc par les acides phosphomolybdique, phosphotungstique et picrique.
Elle est très toxique.

Coqueluche

Mr Afanassief a trouvé dans les crachats des coqueluchеux un bacille cultivant sur la gélatine et les pommes de terre et qui produit dans ces cultures la ptomaïne que Griffiths avait isolée en 1892 des urines des mêmes malades : cette ptomaïne est blanche, cristalline soluble dans l'eau, donne un chloraurate et un chlorhydrate cristallisés, un précipité blanc par l'acide phosphomolybdique, jaune avec l'acide picrique, marron avec l'acide tannique et sa formule établie par l'analyse est $C^5H^{19}AzO^2$.

Eczéma.

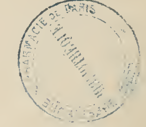
Griffiths a isolé des urines des eczémateux en 1893 une substance qu'il a appelée eczemine à laquelle il a assigné pour formule $C^7H^{15}AzO$
C'est

C'est une substance blanche cristalline soluble dans l'eau faiblement alcaline donnant un chlorhydrate, un chloraurate et un chloroplatinate cristallisés, précipitant en brun avec l'acide phosphotungstique, en jaune avec l'acide phosphomolybdique l'acide picrique et le nitrate d'argent, en vert avec le bichlorure de mercure.

La solution injectée à des animaux produit une inflammation locale (même après stérilisation) une forte fièvre et la mort.



Grippe.



Griffiths et Ladel (C. R. Académie des Sciences du 12 Septembre 1892) ont isolé des urines de malades atteints de la grippe une ptomaïne blanche cristallisée en aiguilles prismatiques, soluble dans l'eau, faiblement alcaline donnant un chlorhydrate, un chloraurate et un chloroplatinate cristallisés précipitant en brun par l'acide phosphotungstique, en jaune par l'acide phosphomolybdique et par l'acide picrique, en rouge par l'acide tannique, en brun par le bichlorure de platine ainsi que par le réactif de Nessler

Elle répond à la formule $C^9H^9AzO^4$ et est très toxique et pyrétogène

Cancer.

Griffiths dans une note à l'Academie des Sciences en date du 11 Juin 1894 dit avoir isolé des urines d'une malade atteinte d'un cancer utérin une ptomaïne blanche cristallisée en aiguilles microscopiques, soluble dans l'eau, à reaction alcaline formant un chlorhydrate, un chloraurate et un chloroplatinate cristallisés, donnant un précipité jaune avec l'acide phosphotungstique, brun avec l'acide phosphomolybdidique, et avec le bichlorure de mercure, rouge avec le nitrate d'argent.

Cette base répondrait à la formule $C^8H^5Az O^3$ et serait très toxique.

Griffiths propose de lui donner le nom de Cancerine.

Au cours de recherches que j'ai entreprises sur l'urine des cancéreux de diverses localisations, je n'ai jamais rencontré la ptomaïne dont parle Griffiths et même dans les urines de deux malades atteintes de cancer de l'utérus, en prélevant les urines directement dans la vessie, je n'ai pu retirer de 10 litres d'urine une trace de cet alcaloïde, je pense donc qu'il est un peu téméraire de la considérer comme caractéristique du cancer ainsi que son nom semble l'indiquer, elle est plutôt a mon avis le résultat d'associations microbiennes greffées sur

sur le cancer ainsi que cela s'observe si souvent surtout dans le cancer de l'utérus, c'est à ce titre seulement que nous l'avons citée car jusqu'à plus ample démonstration nous nous refusons avec Messieurs Simon Duplay et Cazin à admettre la doctrine microbienne du cancer.

Ptomaïne extraite des Cultures du "Micrococcus tétragenus."

Ce Microbe a été isolé des crachats des phtisiques et il cultive très bien sur la gélatine peptonisée et ces cultures traitées par la méthode de Brieger donnent un corps solide blanc cristallisant en aiguilles prismatiques obtenu par Griffiths (C. Rendus Académie des Sciences 1892) soluble dans l'eau, doué d'une réaction faiblement alcaline elle forme un chlorhydrate, un chloraurate et un chloroplatinate cristallisés. Elle est précipitée par les acides phosphomolibdique, phosphotungstique et picrique. L'iodure de potassium et de bismuth donne un précipité vert, le tannin un précipité marron.

Cette base dont la formule est $C^5H^6Az^2O^2$ est toxique et résulte certainement de la décomposition des matières albuminoïdes sous l'influence de la vie du microbe précité.

Ptomaïnes extraites des cultures du Hog-Choléra
(Pneumo-entérite[1])

Dans un travail publié en 1890 dans le Philadelphia Med. New, Schweintz étudie les ptomaïnes contenues dans les cultures du bacille du Hog-Cholera dans la peptone acide de bœuf : il traite ces cultures par le bichlorure de mercure, décompose le précipité au sein de l'eau par l'hydrogène sulfuré, il obtint ainsi une liqueur dans laquelle il retrouva la cadavérine, une amine primaire et le sel d'un alcaloïde présentant les réactions suivantes : précipité jaune clair avec l'acide phosphomolybdique, aiguilles rouges avec l'iodure double de bismuth et de potassium, précipité blanc avec l'acide phosphorique, rouge brun avec l'iodure de potassium, jaune et cristalline avec le bichlorure de platine, jaune rougeâtre avec le chlorure d'or.

Le chloroplatinate répond à la formule $C^{14} H^{34} Az^2 Pt Cl^6$, mais Schweintz ne put en retirer la base, il en obtint seulement le chlorhydrate soluble dans l'alcool absolu ; cette base ne donne pas de sel cristallisé avec l'acide sulfurique.

Les cultures traitées par l'alcool absolu en excès on obtient un précipité floconneux blanc soluble dans l'eau et qui en solution aqueuse

(1) Maladie du porc

aqueuse précipite en blanc avec l'acide sulfurique, le précipité cristallise en lamelle.

Cette même solution aqueuse précipite en aiguilles cristallines par le bichlorure de platine. C'est probablement une toxalbumine.

Cette dernière substance a également été obtenue par Novy Frédérick

Cultures du Staphylococcus pyogènes aureus.

Brieger ayant ensemencé de la viande de boeuf, des bouillons et de la gelatine peptonisée avec le pus provenant d'abcès vit se developper des cultures de staphylococcus, prenant alors ses cultures sur la viande de boeuf divisée, il la traita par sa méthode générale il précipita seulement la peptone avec le bichlorure de mercure et la liqueur séparée du précipité contenait de l'Ammoniaque et une base organique peu toxique dont le chlorhydrate obtenu sous forme de fines aiguilles donne avec l'acide phosphomolybdique un précipité jaune floconneux avec l'acide phosphotungstique un précipité blanc soluble dans un excès de reactif, avec l'iodure de cadmium et potassium une coloration rose avec l'iodure de bismuth et de potassium un précipité aciculaire rouge brun

brun avec l'acide picrique des aiguilles jaunes et qui produit très nettement la réaction Brouardel Boutmy

Messieurs Rodet et Courmont dans une note publiée en des comptes-rendus de la Société de Biologie (Séance du 8 Decembre 1894 admettent que le corps signalé par Brieger est en réalité un mélange de plusieurs substances. Ces substances sont distinctes de la diastase isolée par Christhomas dans les mêmes cultures.

Cultures du Bacille pyocyanique.

Les Observateurs qui ont étudié la coloration bleue produite à la surface des plaies par le bacille pyocyanique sont nombreux, mais c'est Fordos qui l'isola le premier en 1859 et Gessard dans sa thèse de 1882 la reconnut comme produit du bacille pyocyanique et en indiqua le mode d'extraction suivante:

Préparation: On cultive le microbe en question dans l'urine, dans le liquide de l'hydrocèle dans une decoction de carottes et quand le liquide a pris une coloration bleu verdâtre on l'agite avec du chloroforme qui dissout les

matières

matières grasses et les matières colorantes, cette solution chloroformique bleue agitée avec de l'eau acidulée avec HCl lui abandonne la pyocyanine qui devient rouge, cette solution est saturée avec un carbonate alcalin qui met la pyocyanine en liberté; on la redissout avec une petite quantité de chloroforme et cette solution filtrée laisse déposer des cristaux de pyocyanine en s'évaporant.

Propriétés: Elle se présente en prismes ou en lamelles d'une couleur bleu foncé, d'une saveur amère, non déliquescents, solubles dans l'eau, dans l'alcool, le chloroforme, peu soluble dans l'éther, inaltérable par la chaleur, elle vire au rouge par les acides.

Les solutions de pyocyanine précipitent par le chlorure d'étain en lamelles jaune verdâtre, le nitrate d'argent en vert.

La pyocyanine donne des sels cristallisés très solubles dans l'eau et l'alcool, insolubles dans le chloroforme, ils précipitent de leur solution en jaune pour le chlorure d'or et le bichlorure de platine, en bleu par l'iodure double de mercure et de potassium, en vert par le bichlorure de mercure et l'acide phosphomolybdique.

Ils donnent très nettement la réaction Brouardel Boutmy.

La pyocyanine en solution alcaline aqueuse s'oxyde à l'air en donnant la pyoxanthose qui est jaune et possède les réactions de la pyocyanine mais qui

donne

donne avec le chlorure d'or un précipité violet, avec le chlorure platinique un précipité rouge et avec l'acide phosphomolybdique un précipité jaune. Elle jaunit au contact des acides et devient violette avec les alcalis.

L'analyse de la pyocyanine faite par Lederrhose lui assigne la formule $C^{14}H^{14}Az^{2}O$.

Les propriétés physiologiques ont été étudiées avec beaucoup de soin par ~~Monsieur~~ Charrin.



Conclusions.

Cette rapide étude des alcaloïdes d'origine microbienne et des travaux auxquels ces alcaloïdes ont donné lieu suffit pour montrer quel intérêt puissant est attaché à ces recherches et quels résultats on pourra en tirer en continuant les travaux qui ont déjà permis de résoudre un certain nombre de problèmes de chimie générale, de chimie biologique, de médecine légale, de physiologie et de pathologie.

En ce qui concerne la chimie proprement dite, rappelons en effet que Monsieur **Schutzenberger** en chauffant à 200° en vase clos les matières albuminoïdes avec une solution de baryte avait obtenu une hydratation de ces matières suivie d'un dédoublement en tyrosine, leucine, glucoprotéines β non dédoublables et acides hydroprotéiques, il avait démontré également que les leucines en perdant leur acide carbonique se transforment en amines, que les glucoprotéines β non dédoublables s'hydratent en donnant des acides protéiques qui se transforment en bases oxygénées en perdant de l'acide carbonique ; les acides hydroprotéiques perdent également de l'acide carbonique en donnant des

des amines oxygénées qui deshydratées donnent des bases hydropyridiques.

De ces dédoublements sous l'influence d'une hydratation, Monsieur Schützenberger avait conclu à la formule suivante pour représenter la constitution des matières albuminoïdes

$$
CO \left\langle \begin{array}{l} Az \left\langle \begin{array}{l} CO \\ CO \end{array} \right. \\ \\ Az \left\langle \begin{array}{l} H \\ CO \end{array} \right. \end{array} \right. \left| \begin{array}{l} - C^4H^8 - AzH - C^2H^4 - AzH - CH \left\langle \begin{array}{l} CH^3 \\ CO^2H \end{array} \right. \\ - C^3H^6 - AzH - C^2H^4 - \underbrace{Az - CH^2 - CH^2\,CO.} \\ \\ - C^2H^4\,\underbrace{CH - AzH - CH^2 - CH}_{R} - AzH - CH^2 - CO^2H \end{array} \right.
$$

L'hydratation de cette formule conduit à la formation d'urée pour la première partie et des corps suivants:

$OH - CO - C^4H^8\,AzH^2$ (Leucine) $OH - C^2H^4\,AzH^2$ (base oxyéthylénique analogue à la Névrine), etc...

Ces hypothèses que Mr Schützenberger avait émises à la suite de réactions chimiques de laboratoire ont reçu une confirmation éclatante par l'étude des produits de la putréfaction: la fermentation putride peut être considérée comme une véritable hydratation et non comme une oxydation car elle est anaérobie or elle donne des alcaloïdes qui sont semblables aux bases obtenues par Mr Schützenberger nous avons vu, en effet, qu'on a trouvé parmi elles des amines, des ptomaïnes oxygénées et des bases pyridiques et hydropyridiques. La Chimie physiologique est venue ainsi confirmer les hypothèses que la chimie pure avait élaborées: il y a plus

plus, Brieger a retrouvé dans la décomposition putride des matières albuminoïdes les mêmes stades que Schützenberger a trouvé dans leur hydratation par la baryte : il a démontré en effet que les albuminoïdes se transforment d'abord en peptotoxine par hydratation, puis cette peptotoxine se décompose à son tour en ptomaïnes oxygénées, en diamines qui font place à des bases pyridiques et enfin ces bases elles-mêmes se résolvent en triméthylamine, en ammoniaque etc...

Dans les deux cas réaction chimique ou réaction putréfactive suivant la période à laquelle on observe le phénomène on trouve des molecules albuminoïdes incomplètes, des noyaux cycliques qui perdent peu à peu leurs chaînes latérales et vont toujours en se simplifiant.

La chimie biologique doit à cette étude une connaissance plus approfondie de la nutrition de la cellule animale et de la desassimilation, elle a vu par elle se resserrer l'analogie des phénomènes vitaux des deux règnes végétal et animal : tous deux sont susceptibles de produire des alcaloïdes doués de propriétés très voisines et parfois identiques telles la muscarine.

L'étude des ptomaïnes a conduit à celle des leucomaïnes qui éclaire d'un singulier jour les échanges organiques et le retour des substances organisées au règne minéral.

Nous avons vu en traitant des propriétés

des

des alcaloïdes microbiens combien leur étude était utile au médecin legiste et au chimiste expert pour eviter des conclusions erronées dans les expertises et par suite des erreurs judiciaires. La formation des alcaloïdes toxiques dans les cadavres et même dans les tissus vivants au cours de diverses maladies infectieuses montre une fois de plus qu'il ne suffit pas de trouver dans les organes d'un cadavre une matière toxique pour conclure à un empoisonnement et il est indispensable de définir la nature et les propriétés de cette matière toxique, alors seulement on sera en droit de conclure affirmativement. on voit donc quel intérêt puissant s'attache à ces recherches et combien il serait à desirer que la connaissance de ces corps soit suffisante pour éviter les incertitudes que nous avons signalées et qui peuvent résulter du mélange de certains alcaloïdes avec les ptomaïnes dans les viscères exhumés après plusieurs semaines!

Nous avons montré également en citant les travaux de Messieurs Charrin, Bouchard Courmont et Doyon comment l'étude des toxines avait modifié entièrement la conception de la pathogénie des maladies infectieuses: ces maladies doivent être considérées aujourd'hui comme de véritables intoxications et être traitées comme telles. C'est du reste ce que Monsieur Villiers disait dans une de ses communications à l'Académie des Sciences que nous avons citée: « L'étude de ces alcaloïdes

„alcaloïdes peut donner des indications
„utiles en thérapeutique, peut être en effet,
„s'il est vrai que les maladies se terminent
„par un empoisonnement pourrait-on empê-
„cher ce dernier de se produire au moyen
„d'un contrepoison administré d'une manière
„continue jusqu'à ce que la cause de production
„du poison ait disparu. »

Le contre poison auquel Mr Villiers faisait allusion était une substance chimique qui amènerait la destruction ou la neutralisation chimique du poison microbien (C'est ainsi qu'il proposait l'administration de l'eau iodée contre le choléra.); mais dans la même voie de la thérapeutique par les antitoxiques, sont venus des savants qui ont cherché à combattre le poison microbien par d'autres poisons microbiens ou à empêcher sa production en enrayant la fermentation diastasique qui lui donne naissance. C'est cette idée qui a présidé à la découverte des vaccins chimiques, des sérums antitoxiques et des injections immunisantes conséquence des études sur l'immunité naturelle ou acquise.

Mais ici encore le chemin parcouru est bien restreint en comparaison de ce qui reste à faire: il est certain en effet que dans ces vaccins chimiques, dans ces antitoxines, dans ces sérums encore inétudiés au point de vue chimique, il existe des substances chimiques bien définies et c'est proba-
blement

blement à l'une de ces substances qu'il faut rapporter les propriétés du vaccin ou du sérum: il y aurait certainement avantage à préparer cette substance pure comme on l'a fait pour la pepsine, la pancreatine, etc et une posologie plus régulière qui en serait la conséquence permettrait d'en graduer les effets.

D'autre part pendant que le pharmacien bacteriologiste cultivant les agents infectieux récolterait le poison soluble secreté par un microbe pour l'administrer à l'homme malade, le pharmacien chimiste l'aiderait peut être dans cette tâche en reproduisant par synthèse les substances chimiques auxquelles sérums et vaccins doivent leur activité.

Si nous ne pouvons dans l'état actuel de la Science affirmer que ces substances chimiques sont des alcaloïdes, nous sommes en droit de dire que c'est l'étude des alcaloïdes microbiens qui a mis les chercheurs sur la voie de la découverte de ces albumoses de ces albumotoxines, de ces sérums, ferments diastasiques, toxalbumines entre lesquels il est difficile de marquer d'autre limite que leur origine ou leur plus ou moins grande ou plus ou moins rapide activité.

La gradation est insensible des albumines inoffensives aux ptomaïnes et aux toxalbumines et même aux ferments diastasiques pathogènes dont l'action tardive necessitée par l'incubation ne constitue pas une barrière infranchissable

les

les séparant des ptomaïnes car suivant l'avis de Mr A. Gautier : « La lenteur d'action de ces poisons solubles n'est pas contradictoire avec l'hypothèse d'une activité purement chimique : les molécules à fonctions mixtes réagissant d'autant plus lentement les unes sur les autres qu'elles sont plus lourdes et moins conductrices. » et c'est précisément le cas des dérivés des albuminoïdes.

Hôtel-Dieu le 20 Juillet 1895

Camille Savoire

